

MAURICIO DE CARVALHO

**USO DA ERITROPOETINA RECOMBINANTE HUMANA
NO TRATAMENTO DA ANEMIA ASSOCIADA À
INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA: ESTUDO
DE 20 PACIENTES EM HEMODIÁLISE.**

Dissertação apresentada como requisito
parcial à obtenção do grau de Mestre.
Curso de Pós-Graduação em Medicina
Interna do Setor de Ciências da Saúde
da Universidade Federal do Paraná.

CURITIBA
1996

ORIENTADOR

Professor Mario Luiz Luvizotto

A beleza será convulsiva, se for para ser tudo.

André Breton.

Dedico este trabalho
Aos meus pais, Lourdes e Jair
Ao meu irmão, Márcio,
À Gisah,

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. João Alceu Tilton**, meu mentor, por ter me ensinado a contemplar o que contém o mundo.

Ao **Prof. Plauto Piazza Branco**, pela amizade e cooperação constantes, e pela revisão criteriosa deste texto.

Ao **Prof. Rogério Andrade Mulinari**, chefe do Departamento de Clínica Médica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pelo apoio e por ter me proporcionado a gratificante experiência da Preceptoria na Residência de Clínica Médica.

Ao **Prof. Ângelo Luiz Tesser**, pelas inúmeras demonstrações de amizade durante este longo tempo de convivência.

Ao **Prof. Lineu César Werneck**, coordenador do Curso de Pós-Graduação em Medicina Interna do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, pela oportunidade de realizar este trabalho.

Aos **médicos residentes do Departamento de Clínica Médica** do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, por me fornecerem entusiasmo e amizade inesgotáveis.

À **Giséle Voss Bergmann**, pelo auxílio na revisão bibliográfica.

Às **enfermeiras Itamara Santos Alves e Atsuko Maeda e a secretária Cacilda Nunes Silveira**, pela contribuição na coleta dos dados deste estudo.

Aos **pacientes nefropatas crônicos**, razão maior deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	IX
LISTA DE QUADROS.....	IX
LISTA DE FIGURAS.....	X
RESUMO.....	XI
ABSTRACT.....	XII
INTRODUÇÃO.....	1
REVISÃO DA LITERATURA.....	5
1. ANEMIA NA INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA.....	5
2. ETIOLOGIA DA ANEMIA NA INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA.....	8
2.1. Diminuição da sobrevivência das hemácias.....	8
2.2. Inibição da eritropoese.....	10
2.3. Perda sanguínea aumentada.....	12
2.4. Deficiência de nutrientes.....	13
2.5. Outros mecanismos.....	14

3. ERITROPOETINA.....	15
3.1. Histórico.....	16
3.2. Locais de síntese da eritropoetina.....	18
3.3. Estrutura da eritropoetina.....	19
3.4. Regulação da secreção de eritropoetina.....	20
3.5. Atuação na diferenciação eritróide.....	22
3.6. Eritropoetina recombinante humana.....	23
3.7. Primeiras experiências clínicas.....	24
OBJETIVOS-----	26
MATERIAL E MÉTODOS-----	27
1. CASUÍSTICA.....	27
1.1. Seleção dos pacientes.....	28
1.2. Avaliação clínica.....	30
2. MÉTODOS.....	30
2.1. Avaliação laboratorial.....	31
2.2. Técnica de hemodiálise.....	32
2.3. Administração de eritropoetina.....	33
2.4. Administração de ferro endovenoso.....	34
2.5. Análise estatística.....	35

RESULTADOS	36
1. HEMATÓCRITO.....	36
2. TRANSFUSÕES SANGUÍNEAS.....	37
3. ÍNDICE DE RETICULÓCITOS.....	39
4. DOSE DE ERITROPOETINA.....	39
5. DOSE DE FERRO UTILIZADA, FERRO SÉRICO E SATURAÇÃO DA TRANSFERRINA.....	40
6. POTÁSSIO, FÓSFORO E CÁLCIO SERICOS.....	41
7. ADEQUAÇÃO DA HEMODIÁLISE.....	42
8. PESO CORPORAL.....	43
9. PRESSÃO ARTERIAL.....	44
10. EFEITOS COLATERAIS.....	45
11. CORRELAÇÕES DO HEMATÓCRITO COM DIVERSAS VARIÁVEIS.....	45
12. COMPARAÇÃO ENTRE O GRUPO COM HEMATÓCRITO MAIOR OU IGUAL A 30% E MENOR QUE 30%.....	46
DISCUSSÃO	48
CONCLUSÕES	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. METABOLISMO DO FERRO (MÉDIA DO GRUPO).....	41
TABELA 2. ELETRÓLITOS (MÉDIA DO GRUPO).....	42
TABELA 3. ADEQUAÇÃO DA HEMODIÁLISE (MÉDIA DO GRUPO).....	43
TABELA 4. PESO DOS PACIENTES (MÉDIA DO GRUPO).....	43
TABELA 5. EFEITOS COLATERAIS DA ERITROPOETINA.....	45
TABELA 6. ANÁLISE DAS CORRELAÇÕES DO HEMATÓCRITO.....	46
TABELA 7. COMPARAÇÃO ENTRE O GRUPO COM HEMATÓCRITO MAIOR OU IGUAL A 30% E MENOR QUE 30%.....	47

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1. ETIOLOGIA DA ANEMIA NA INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA....	8
QUADRO 2. EFEITOS COLATERAIS DA TERAPÊUTICA COM ERITROPOETINA RECOMBINANTE HUMANA.....	52

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. RELAÇÃO ENTRE O HEMATÓCRITO E A CREATININA PLASMÁTICA.....	6
FIGURA 2. DESENVOLVIMENTO DA LINHAGEM ERITROCITÁRIA.....	22
FIGURA 3. EVOLUÇÃO DO HEMATÓCRITO (MÉDIA DO GRUPO).....	37
FIGURA 4. TRANSFUSÕES ANTES E APÓS O USO DE ERITROPOETINA.....	38
FIGURA 5. DOSE DE ERITROPOETINA MENSAL (MÉDIA DO GRUPO).....	40
FIGURA 6. EVOLUÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL.....	44
FIGURA 7. MECANISMOS DA HIPERTENSÃO ARTERIAL ASSOCIADA AO TRATAMENTO COM ERITROPOETINA RECOMBINANTE HUMANA.....	55

RESUMO

A anemia acompanha a insuficiência renal crônica e está presente na maioria dos pacientes em diálise. O objetivo deste estudo foi analisar o efeito de seis meses de tratamento com a eritropoetina recombinante humana (EPO-rHu) na anemia associada à insuficiência renal crônica terminal em vinte pacientes mantidos em programa de hemodiálise. Os critérios de inclusão foram: pacientes que estivessem em hemodiálise por pelo menos 3 meses, com idade maior que 18 ou menor que 70 anos; hematócrito menor que 24%; cinco ou mais unidades de concentrados de hemácias transfundidas nos 12 meses anteriores ao estudo; angina ou insuficiência cardíaca agravadas pela anemia. A EPO-rHu foi utilizada por via endovenosa, em dose inicial de 75 UI/kg de peso por semana para todos os pacientes, e aumentada mensalmente até se atingir hematócrito de 30% ou dose total semanal de 150 UI/kg. Foi administrado ferro por via endovenosa sempre que a saturação da transferrina estivesse abaixo de 20%. Houve um aumento significativo do hematócrito médio do grupo, de 22,75% para 30,50% ($p<0,0001$), aumento do índice de reticulócitos ($1,31\pm0,59$ vs. $1,88\pm0,61$; $p<0,004$) e diminuição do número de transfusões ($1,5\pm2,09$ vs $0,35\pm1,08$; $p<0,0001$). Quatorze pacientes alcançaram hematócrito igual ou maior que 30%. Não houve variação significativa na pressão arterial, peso corporal total, ferro sérico, saturação da transferrina, fósforo, cálcio, porcentagem de redução de uréia e índice Kt/V. O efeito colateral mais importante observado durante o uso de EPO-rHu foi a hiperpotassemia (maior que 5,5 mEq/l), presente em 55% dos pacientes. Concluimos que a EPO-rHu foi eficaz e segura na correção da anemia associada à insuficiência renal crônica. Atenção especial deve ser dada a monitorização do potássio sérico durante o tratamento.

ABSTRACT

Anemia accompanies chronic renal failure and is present in most patients in dialysis. The purpose of the present study was to analyse the effect of six months of treatment with human recombinant erythropoietin (EPO-rHu) in the anemia associated with end-stage renal disease in twenty patients under hemodialysis. The inclusion criteria were: patients in hemodialysis for at least three months, with more than 18 or less than 70 years of age; hematocrit lower than 24%; five or more units of packed red cells transfused in the last 12 months; angina or congestive cardiac failure made worse by anemia. The EPO-rHu was given intravenously, initially at 75 UI/kg/week for all patients and increased monthly until a target hematocrit of 30% or total dosage of 150 UI/kg/week. Iron was given intravenously when the transferrin saturation was below 20%. There was a significant increase in the medium hematocrit of the group, from 22,75% to 30,50% ($p<0,0001$), increase in reticulocyte index ($1,31\pm0,59$ vs. $1,88\pm0,61$; $p<0,004$) and decrease in the number of transfusions ($1,5\pm2,09$ vs. $0,35\pm1,08$; $p<0,0001$). Fourteen patients achieved hematocrit equal to or higher than 30%. There were no significant changes in blood pressure, weight, serum levels of iron, phosphorus and calcium, transferrin saturation, percent reduction of urea and Kt/V index. The most important side effect observed during EPO-rHu therapy was hyperkalemia (more than 5,5 mEq/l), present in 55% of patients. We conclude that EPO-rHu was effective and safe in correcting the anemia associated with chronic renal failure. Especial attention must be paid to the serum potassium during the therapy.

INTRODUÇÃO

A insuficiência renal crônica é conceituada como uma síndrome resultante da destruição progressiva e irreversível da massa de néfrons, independente do agente causal⁽²²⁾. Quando um nível crítico de deterioração da função glomerular, tubular e endócrina renal é atingido, a progressão para insuficiência renal crônica terminal é comum, mesmo quando o evento ou condição iniciante são removidos.

O termo uremia foi criado em 1847 por P.A. Piorry. Significa, literalmente, contaminação do sangue pela urina e designa a constelação de sinais e sintomas associados à insuficiência renal crônica⁽¹¹⁰⁾. A uréia é usada como marcador da síndrome urêmica por ser o composto quantitativamente mais importante do metabolismo de proteínas e também pela facilidade de sua mensuração.

Entretanto, muitos são os compostos que se acumulam na insuficiência renal e são considerados toxinas urêmicas, como por exemplo o hormônio paratiróideo, compostos guanidínicos e poliaminas^(110, 111). Apesar de um número grande de estudos, tem sido difícil atribuir toxicidade específica à determinada substância, parecendo haver uma interação entre elas para criar o meio urêmico.

A avaliação do déficit de função renal é feita pela demonstração da queda na taxa de filtração glomerular, que pode ser expressa por meio de alterações na excreção de marcadores exógenos livremente filtrados pelos rins, como a inulina. Porém, esta não é uma abordagem rotineira. Utiliza-se com mais frequência na prática clínica a determinação da depuração da creatinina endógena e a dosagem da creatinina e uréia plasmáticas, entre outros^(101, 37, 159).

As causas da insuficiência renal crônica são múltiplas, sofrendo variação de acordo com a região geográfica analisada. Na Europa e Austrália, a causa mais comum de insuficiência renal crônica terminal é a glomerulonefrite, em suas várias formas. Nos Estados Unidos, 35,1% dos novos pacientes admitidos para tratamento dialítico são diabéticos e 29,9% apresentam hipertensão arterial como causa básica da insuficiência renal crônica⁽²¹⁾. No Brasil, de acordo com dados do V Registro Brasileiro de Diálise e Transplante Renal de 1993, a causa mais comum é a glomerulonefrite crônica, seguida pela nefroesclerose maligna⁽¹⁴³⁾.

Independente da etiologia, a perda da função renal causa alterações em praticamente todos os sistemas do organismo. As manifestações clínicas ocasionadas pela insuficiência renal crônica e conseqüente uremia são muito variadas e incluem distúrbios hidroeletrólíticos, alterações endócrino-metabólicas, gastrointestinais, pulmonares, dermatológicas, imunológicas, neuromusculares, cardiovasculares e hematológicas⁽¹³²⁾

Destacam-se entre as manifestações hematológicas a tendência ao sangramento, as anormalidades dos leucócitos e a anemia.

A patogênese dos defeitos da coagulação na insuficiência renal crônica ainda não é totalmente conhecida, porém os dados atuais indicam defeito na hemostasia primária, com anormalidades na interação vâsculo-plaquetária. Aproximadamente 20% dos pacientes urêmicos possuem trombocitopenia, mas raramente a contagem de plaquetas é menor que 50.000/ μ l⁽⁴⁾. Várias alterações foram relatadas em nível plaquetário, incluindo diminuição na serotonina e adenosina difosfato, elevação da adenosina monofosfato cíclica e uma geração defeituosa de tromboxane A₂⁽¹⁵⁴⁾. Recentemente, foi documentado no endotélio de pacientes nefropatas crônicos um aumento na produção de prostaciclina e óxido nítrico e defeitos na síntese de fator VIII/von Willebrand.⁽¹²⁹⁾ Clinicamente, há incidência aumentada de púrpura, equimoses e sangramentos. O tempo de sangramento é prolongado e pode ser corrigido com a utilização de desmopressina, crioprecipitado, estrógenos conjugados, transfusões sanguíneas, bem como com o uso de eritropoetina^(48, 44, 140).

Alterações da função leucocitária na uremia aumentam a suscetibilidade ao surgimento de infecções. Pode haver linfocitopenia e atrofia de estruturas linfóides. A produção de granulócitos não é alterada⁽²²⁾. Entretanto, o soro urêmico afeta adversamente a quimiotaxia e a fagocitose dos neutrófilos. Ocorre diminuição da imunidade celular, com anergia cutânea, supressão da resposta de hipersensibilidade tardia e da produção de citocinas pelos linfócitos. Há

tendência de os pacientes urêmicos apresentarem hipotermia ou ausência de febre diante de um quadro infeccioso⁽⁷³⁾.

A anemia é tipicamente normocrômica, normocítica e hipoproliferativa. Observações experimentais e clínicas realizadas recentemente, e o surgimento da eritropoetina recombinante humana ajudaram a esclarecer vários pontos de sua gênese⁽⁵⁶⁾. Mesmo com o tratamento de substituição renal, seja por hemodiálise ou diálise peritoneal, a anemia não é totalmente corrigida. O transplante renal bem sucedido normaliza o hematócrito, porém, no Brasil, apenas 10% dos pacientes em diálise conseguem ser transplantados⁽¹⁰²⁾.

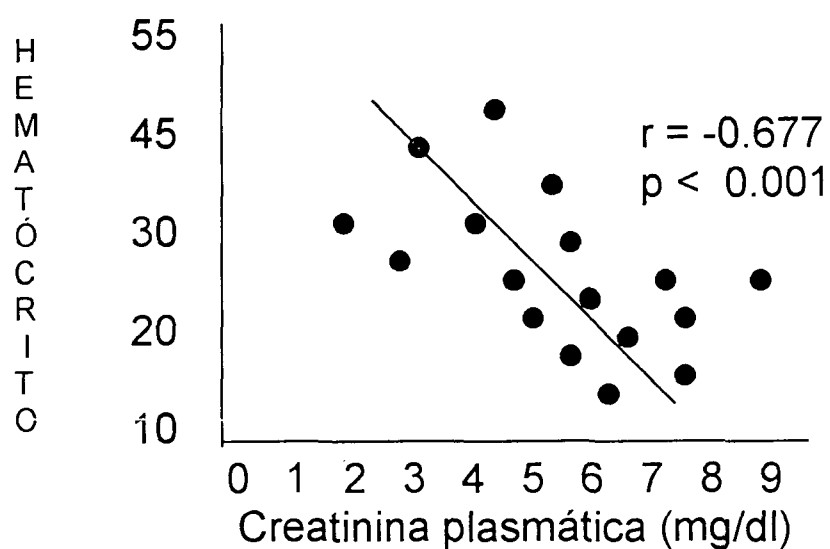
REVISÃO DA LITERATURA

1. ANEMIA NA INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA

A associação entre anemia e insuficiência renal crônica foi observada, há mais ou menos 150 anos, por Richard Bright. Constitui-se numa das manifestações mais características e visíveis da insuficiência renal crônica, podendo ser o achado inicial que leva ao diagnóstico, na ausência de hipertensão ou proteinúria⁽⁵⁴⁾.

A anemia aparece precocemente na insuficiência renal crônica e sua intensidade correlaciona-se diretamente com a piora da função renal. Reconhece-se que quase todos os pacientes apresentam anemia quando a creatinina plasmática ultrapassa 3 mg% (figura 1). Quando os pacientes iniciam tratamento dialítico, ela é praticamente universal⁽¹⁵²⁾.

FIGURA 1 - RELAÇÃO ENTRE O HEMATÓCRITO E A CREATININA PLASMÁTICA.



Modificada de Thompson⁽¹⁵²⁾.

A anemia é mais intensa no paciente anéfrico, o qual antes do surgimento da eritropoetina, dependia invariavelmente de transfusões sanguíneas. Nos portadores de doença policística dominante do adulto, a anemia é menos grave e progride mais lentamente em relação ao declínio da função renal⁽⁸⁾.

A medula óssea é de celularidade normal, sem alterações na maturação, havendo apenas uma discreta diminuição na relação eritróide-granulócitos. A qualidade de maturação da série vermelha é preservada. Porém, a quantidade de eritropoese é diminuída em proporção ao grau de anemia. O índice de produção de reticulócitos é menor que 1,5%⁽⁸⁾, observando-se uma relação inversa entre o fluxo sanguíneo renal e o índice de produção de reticulócitos⁽⁹⁴⁾. No exame do esfregaço sanguíneo, o único dado característico, porém não patognomônico, é o achado de acantócitos. Estes são eritrócitos com vinte ou trinta espículas, regularmente distribuídas na superfície celular. A presença dos acantócitos se correlaciona com a intensidade da uremia, mas não com a gravidade da anemia. Um fator termo-sensível, presente no soro urêmico, tem sido postulado como responsável pelo aparecimento desses eritrócitos⁽³⁵⁾.

Apesar de os sintomas urêmicos melhorarem com a diálise, a anemia persiste, com o hematócrito variando entre 15 a 30 ml/dl. Estes níveis de hematócrito são responsáveis por sintomas, como fadiga, redução da tolerância ao exercício, diminuição da capacidade cognitiva e deterioração da função cardiovascular⁽²³⁾.

A etiologia da anemia na insuficiência renal crônica é multifatorial. Embora a produção inadequada de eritropoetina seja o agente causal mais importante, existem outros mecanismos envolvidos (quadro 1).

QUADRO 1 - ETIOLOGIA DA ANEMIA NA INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA.

- Deficiência de eritropoetina.
 - Diminuição da sobrevida das hemácias.
 - Inibição da eritropoese.
 - Perda sanguínea aumentada.
 - Deficiência de nutrientes.
 - Ferro
 - Ácido fólico
 - Vitamina B12
 - Outros mecanismos.
 - Hiperparatireoidismo (osteíte fibrosa cística)
 - Toxicidade pelo alumínio
-

2. ETIOLOGIA DA ANEMIA NA INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA -

2.1. DIMINUIÇÃO DA SOBREVIDA DAS HEMÁCIAS -

A diminuição da sobrevida das hemácias na insuficiência renal crônica é de grau moderado. Estudos utilizando eritrócitos marcados com ^{51}Cr mostraram uma redução de 20 a 30% na sobrevida do glóbulo vermelho, redução esta que poderia ser facilmente compensada por uma medula óssea normalmente responsiva⁽⁸⁴⁾.

Embora existam anormalidades intra-celulares que favoreçam a hemólise *in vitro*, a normalização quase imediata da vida média do eritrócito, quando o mesmo é transfundido em um indivíduo normal, sugere que a causa básica é extracelular, relacionada a alguma toxina urêmica⁽⁸⁵⁾.

Acredita-se que substâncias contidas no plasma de pacientes com insuficiência renal crônica alterem a bomba de sódio-potássio ATPase da membrana eritrocitária e interfiram com a via fosfato-pentose intracelular, diminuindo a disponibilidade de glutathione reduzido, tornando o eritrócito mais suscetível à oxidação da hemoglobina e à hemólise⁽⁸⁵⁾.

Este estresse oxidativo pode ser originado também por depleção de fosfatos intra-celulares ocasionada pelo uso excessivo de quelantes de fósforo via oral, por medicações como metildopa, penicilina, cefalosporinas e quinidina e ainda por fatores relacionados à hemodiálise, no caso de insuficiência renal crônica terminal, como, por exemplo, a exposição de eritrócitos a soluções de diálise contaminadas com cobre ou nitrato⁽¹¹⁹⁾.

O hormônio paratireóideo quando em concentrações elevadas pode contribuir para a diminuição da meia vida eritrocitária. O paratormônio intacto ou seu fragmento amino-terminal aumentam a fragilidade osmótica de glóbulos vermelhos *in vitro*, provavelmente por aumentar a rigidez da membrana celular. Em cães com insuficiência renal crônica, a paratireoidectomia normaliza a sobrevivência dos eritrócitos⁽¹⁰⁹⁾.

Existem fatores adicionais menos comuns que podem induzir hemólise. Em alguns pacientes em tratamento hemodialítico, por razões desconhecidas, ocorre esplenomegalia com subsequente hiperesplenismo e hemólise^(10). A patologia causadora da insuficiência renal crônica *per se* pode originar hemólise. É o caso da anemia hemolítica microangiopática associada à poliarterite nodosa, lúpus eritematoso sistêmico ou hipertensão arterial maligna.

2.2. INIBIÇÃO DA ERITROPOESE -

Inibidores da eritropoese têm sido implicados como atuantes na uremia. O fato de alguns pacientes em hemodiálise melhorarem sua anemia com o tratamento é consistente com este achado.

Estudos *in vitro*, utilizando culturas de medula óssea, demonstraram inibição da resposta à eritropoetina por células formadoras de colônias eritrocitárias, quando em contacto com o plasma urêmico. Tentativas de melhor caracterizar estas substâncias, entretanto, trouxeram resultados conflitantes^(155).

A espermina e a espermidina são poliaminas de baixo peso molecular que estão presentes em concentrações aumentadas na insuficiência renal crônica. Exercem, *in vitro*, efeito inibidor na eritropoese, granulocitopoese e trombocitopoese. Devido à sua inespecificidade e pela ausência de leucopenia e

trombocitopenia significativas na uremia, seu efeito como inibidor da eritropoese *in vivo* é questionado^(138).

O hiperparatireoidismo secundário figura como causa de inibição da eritropoese. Porém, os estudos são controversos. Massry, em estudo com ratos, demonstrou que o hormônio paratireóideo intacto, isto é com 84 aminoácidos, ou seu fragmento carboxi-terminal são capazes de inibir a eritropoese e que quantidades adequadas de eritropoetina podem suplantar este efeito^(109). Subseqüentemente, outros pesquisadores não conseguiram confirmar estes achados^(39).

A partir da observação clínica de que pacientes transferidos de tratamento hemodialítico para diálise peritoneal apresentavam aumento do hematócrito, aventou-se a possibilidade de moléculas com peso médio entre 500 a 3000 dáltons serem inibidoras da eritropoese^(20). O fato justifica-se pela maior depuração destas moléculas através do peritônio humano. Entretanto, a ausência de perda sanguínea acarretada pela diálise peritoneal parece contribuir com uma parcela da melhora. Além disto, a melhora não é uniforme e nem duradoura para todos os pacientes em diálise peritoneal. Em média, os pacientes que melhoram o hematócrito em diálise peritoneal têm níveis mais altos de eritropoetina^(72).

A normalização do nível de hemoglobina, com o uso de eritropoetina humana recombinante, é considerada por alguns autores como argumento

contrário à importância clínica da inibição da eritropoese em pacientes renais crônicos. Eschbach e colaboradores administraram a indivíduos normais e portadores de insuficiência renal crônica doses variáveis de eritropoetina (15, 50, 150 ou 500 UI/kg, por via endovenosa). Quando os dados foram expressos como porcentagem de aumento em relação ao nível basal, a resposta eritróide foi similar entre os dois grupos, indicando não haver inibição à ação da eritropoetina ⁽⁷²⁾.

2.3 - PERDA SANGUÍNEA AUMENTADA -

A perda sanguínea também contribui para a anemia em pacientes com insuficiência renal crônica avançada. É de menor grau em pacientes em tratamento conservador e em diálise peritoneal do que nos pacientes submetidos à hemodiálise. Ocorre basicamente por anormalidades da hemostasia primária. Existe também uma incidência aumentada de sangramento gastrointestinal, causada principalmente por dois fatores: gastroenterite urêmica, que pode ocasionar hemorragias submucosas espontâneas, e lesões angiodisplásicas em estômago, duodeno, jejuno e cólon, que são responsáveis por 20% das hemorragias digestivas dos nefropatas crônicos^(42). Nos pacientes em hemodiálise, ocorre perda de até 20 ml de sangue por sessão de diálise, o que equivale a 5ml de eritrócitos ou 5mg de ferro, em um paciente com hematócrito de 25 ml/dl, por exemplo. Quando são incluídas as coletas de sangue para exames e

perdas acidentais durante o procedimento, o déficit anual pode chegar a 1200mg de ferro^(58).

2.4 - DEFICIÊNCIA DE NUTRIENTES -

A síntese de hemoglobina é diminuída na deficiência de ferro, prejudicando a eritropoese. Além da perda aumentada, pode haver diminuição da absorção de ferro. Esta é causada basicamente pela quelação do ferro, em nível gástrico e duodenal, por compostos de alumínio usados no controle da fosfatemia. Embora a absorção de ferro esteja diminuída em alguns pacientes com insuficiência renal crônica, Eschbach e colaboradores observaram que a quantidade de ferro absorvido era inversamente proporcional aos estoques do mesmo, como esperado^(51). A administração de eritropoetina recombinante humana a pacientes com insuficiência renal crônica resulta em uma série de alterações no metabolismo do ferro, incluindo diminuição da reserva corporal com queda dos níveis de ferritina e indução de deficiência relativa de ferro, com saturação de transferrina baixa e taxa de ferritina normal⁽³⁾.

O ácido fólico sérico, em pacientes portadores de insuficiência renal crônica, tem sido descrito como normal ou diminuído, quando comparado com grupo-controle de pacientes hospitalizados. As discrepâncias dos resultados devem-se provavelmente a diferenças nas técnicas de mensuração

utilizadas^(120, 116). Alguns autores verificaram alteração no transporte intra-celular do ácido fólico na insuficiência renal crônica, e constataram níveis séricos elevados em relação ao estoque tissular⁽⁷⁷⁾. O ácido fólico é uma substância dialisável e, conseqüentemente, a deficiência de folato é um problema potencial em pacientes submetidos à hemodiálise, principalmente se associado a uma dieta deficiente. Entretanto, Cunnigham e colaboradores calcularam a perda de folato em uma sessão de hemodiálise, obtendo um valor médio de 37,3 µg, equivalente a 16µg por dia, assumindo a freqüência de três sessões de hemodiálise por semana. Esta perda é apenas ligeiramente superior àquela de um indivíduo normal, que se situa em torno de 10µg ao dia⁽³⁶⁾. Ono e Hisasue, em um estudo recente com vinte pacientes em hemodiálise usando eritropoetina, concluíram não haver necessidade para a suplementação rotineira de ácido fólico, se a dieta for adequada⁽¹¹⁷⁾.

A deficiência de vitamina B12 é rara em pacientes renais crônicos em tratamento conservador ou hemodialítico. A suplementação dietética com aminoácidos ou vitaminas não apresentou benefício clínico⁽⁵⁸⁾.

2.5 - OUTROS MECANISMOS -

O hiperparatireoidismo pode ser parcialmente responsável pela anemia que acompanha a insuficiência renal crônica. É bem conhecida a fibrose medular induzida pelo mesmo, com redução do compartimento eritróide e diminuição da

eritropoese^(43). Quando a fibrose medular torna-se acentuada, pode haver eritropoese extra-medular e desenvolvimento de esplenomegalia. Esta pode contribuir para a diminuição da sobrevivência do eritrócito e pancitopenia^(58).

A toxicidade pelo alumínio pode afetar a eritropoese. A exposição resulta da ingestão de antiácidos à base de alumínio, usados como captores de fósforo no trato gastrointestinal e por intermédio da água contendo alumínio, em pacientes tratados por hemodiálise. O mecanismo pelo qual interfere com a eritropoese ainda não é totalmente entendido. Parece haver interferência do alumínio na captação de ferro pelo eritrócito, através da inibição de enzimas, como a ferroquelatase ou a uroporfirina descarboxilase, resultando em deficiência intra-celular de ferro e microcitose^(82).

3. ERITROPOETINA -

A partir de 1987, com a utilização clínica da eritropoetina humana recombinante por Eschbach e colaboradores, descortinou-se uma nova era no estudo e tratamento da anemia associada à insuficiência renal crônica^(53). Alguns autores colocam nitidamente o manejo desta situação em pré e pós-disponibilidade da eritropoetina.

3.1 - HISTÓRICO -

Em 1906, o professor francês Paul Carnot e sua assistente Mademoiselle Deflandre observaram que o soro de coelhos anêmicos, injetado em coelhos normais, proporcionava um aumento na produção de hemácias. Eles formularam a hipótese de um fator humoral que induziria a hematopoese, denominando-o de hemopoetina⁽⁵⁴⁾. Entretanto, outros pesquisadores não conseguiram reproduzir os achados, e a existência da hemopoetina foi negada enfaticamente ⁽⁷⁾.

Na década de 40, o conceito foi retomado e demonstrou-se aumento na contagem de reticulócitos após a injeção de soro em animais de experimentação. Porém, o ponto de vista predominante era que o estímulo para a eritropoese ocorria com a diminuição da tensão de oxigênio em nível de medula óssea⁽⁷⁾.

A existência da eritropoetina, termo criado por Bonsdorff e Jalavisto em 1948, foi finalmente estabelecida em 1953 pelos experimentos de Allan Erslev. Ele demonstrou que o soro de coelhos anêmicos tinha um efeito eritropoético específico, consistente e significativo quando injetado em grandes quantidades (200 ml) em coelhos receptores^(49). Logo após, em 1957, Jacobson e colaboradores, verificaram ausência de resposta hematopoética à anemia em ratos nefrectomizados bilateralmente, comprovando a origem renal da eritropoetina^(15).

Em 1968, Adamson demonstrou uma relação inversa entre os níveis de eritropoetina e o hematócrito em indivíduos normais. A eritropoetina urinária e plasmática aumentavam quando o hematócrito era reduzido por flebotomias e diminuiam com transfusões de concentrado de hemácias, indicando um controle retroalimentador da produção renal pela capacidade carreadora de oxigênio do sangue^(2).

A eritropoetina humana foi purificada em 1977 por Miyake e colaboradores, que procederam à análise de 2500 litros de urina obtidos de pacientes com anemia aplástica^(113). Logo a seguir, desenvolveram-se métodos de radioimunoensaio para detectar a eritropoetina em soro humano normal e comparar seus níveis em várias situações clínicas.

Em 1984, Eschbach, Adamson e colaboradores, usando como modelo experimental ovelhas com nefrectomia subtotal, confirmaram que a suplementação exógena de eritropoetina era capaz de aumentar a produção de hemácias^(52).

Lin e Jacobs, de modo independente em 1985, utilizando oligonucleotídeos degenerados, obtiveram a clonagem do gene da eritropoetina^(103, 80). A partir daí houve um avanço nas técnicas de engenharia genética, possibilitando a obtenção de grandes quantidades de eritropoetina recombinante humana.

3.2 - LOCAIS DE SÍNTESE DA ERITROPOETINA -

Desde a clonagem do gene da eritropoetina, vários estudos têm procurado identificar os órgãos e células envolvidos na sua produção, pela detecção e mensuração do ácido ribonucléico (RNA) mensageiro associado.

O rim é o principal órgão produtor de eritropoetina. Entretanto, a natureza exata das células que a sintetizam ainda é motivo de controvérsia. Estudos iniciais, baseados em técnicas imunohistoquímicas, apontaram células glomerulares, mesangiais ou ainda de túbulo proximal, como produtoras de eritropoetina^(25, 95, 30). Com o emprego de técnicas de hibridização *in situ* , vários pesquisadores demonstraram convincentemente que as células envolvidas na geração de eritropoetina localizam-se entre os túbulos renais, no interstício do córtex renal^(96, 88). Como a maior parte do espaço peritubular consiste de capilares, sugeriu-se que células endoteliais produziram eritropoetina^(96). Dados mais recentes, todavia, indicam que uma população de células semelhantes a fibroblastos no interstício do córtex renal seriam as responsáveis pela síntese^(14).

Durante a vida fetal, o fígado é o principal produtor de eritropoetina. Em algumas espécies de animais, esta predominância se estende até o período neonatal^(46). A contribuição quantitativa em humanos adultos ainda não foi bem estabelecida.

Baseados em estudos com anéfricos, estima-se que em torno de 15% da eritropoetina seja gerada no fígado^(149). Métodos de hibridização *in situ* demonstraram a presença de RNA mensageiro para a eritropoetina em dois tipos de células hepáticas: 80% das células que continham o RNA mensageiro eram hepatócitos e as 20% restantes eram células de morfologia não epitelial, localizadas adjacentes aos espaços sinusoidais^(90, 136).

Além de no rim e no fígado, níveis baixos de RNA mensageiro para a eritropoetina foram detectados no cérebro, testículos, pulmões e baço. Porém, sua contribuição quantitativa, mesmo quando somada, é desprezível^(148).

3.3 - ESTRUTURA DA ERITROPOETINA -

A eritropoetina é um hormônio glicoprotéico, contendo aproximadamente 30% de carboidratos, dos quais 11% são de ácido siálico, 11% de hexose e 8% de amino-acetilglicosamina. Possui peso molecular de 34000 dáltons^(47, 38, 41), determinado por meio de eletroforese. Embora os carboidratos não sejam necessários para a interação com as células-alvo, sua presença e composição são de importância considerável para a depuração da eritropoetina, determinando

sua atividade biológica *in vivo*. A remoção do ácido siálico das cadeias de carboidrato resulta em perda quase completa da sua ação. Isto é devido à rápida captação por receptores hepáticos, que reconhecem resíduos de galactose livre expostos pela desialização^(142, 66, 144). Entretanto, sua atividade *in vitro* é mantida.

O gene que codifica a eritropoetina está localizado no cromossomo 7. Possui aproximadamente 3000 pares de bases e contém 5 éxons e 4 íntrons^(68). O gene codifica um polipeptídeo com 193 aminoácidos. Uma sequência de 23 aminoácidos na porção amino-terminal e uma molécula de arginina na porção carboxi-terminal são clivadas após a translação, resultando na proteína final de 165 aminoácidos^(128, 123).

3.4 - REGULAÇÃO DA SECREÇÃO DE ERITROPOETINA -

A relação inversa existente entre a oferta de oxigênio e a concentração de eritropoetina fornece os subsídios para a existência de um sistema retroalimentador altamente eficaz na formação da massa total de eritrócitos circulantes^(123, 47).

O fator primordial no controle da produção de eritropoetina é a quantidade de oxigênio disponível. Em consequência, a concentração de eritropoetina pode

aumentar em condições heterogêneas, como, por exemplo, na redução absoluta de hemoglobina que ocorre na anemia, na diminuição da capacidade carreadora de oxigênio da hemoglobina nas intoxicações por monóxido de carbono ou, ainda, na redução da saturação arterial do oxigênio que surge em grandes altitudes^(97, 50, 147).

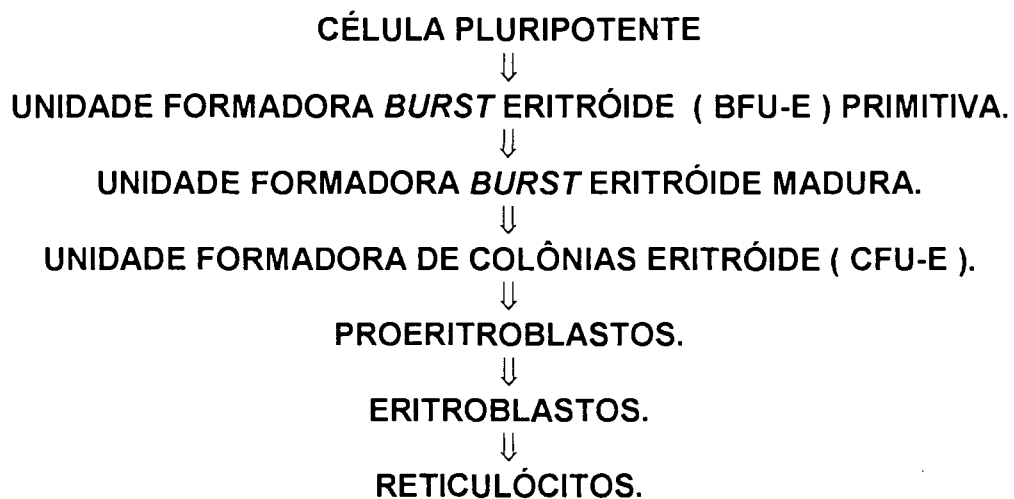
Este sistema depende de mecanismos precisos de detecção, que percebam modificações na oferta de oxigênio e permitam alterações da atividade do gene da eritropoetina, em nível renal e hepático. Apesar de muitas pesquisas, ainda não foi identificado o elemento sinalizador da tensão de oxigênio. Uma hipótese sugerida é que este sinalizador seria uma proteína heme, que responderia a alterações na oxigenação com mudanças em sua conformação. Quando a tensão de oxigênio estivesse baixa, a proteína heme assumiria uma conformação desoxidada, análoga à hemoglobina, induzindo a expressão do gene da eritropoetina^(45, 123).

Ainda não está esclarecido, entretanto, se as células peritubulares que sintetizam a eritropoetina são as células que abrigariam estes sinalizadores da tensão de oxigênio^(128).

3.5 - ATUAÇÃO NA DIFERENCIAÇÃO ERITRÓIDE -

Na linhagem eritróide das células progenitoras hematopoiéticas, o desenvolvimento pode ser dividido em estágios, iniciando com a célula pluripotente e finalizando com a geração de reticulócitos (figura 2). As linhagens prévias ao proeritroblasto são definidas por suas características de crescimento *in vitro*, enquanto as posteriores a ele são reconhecidas por sua aparência morfológica^(92).

FIGURA 2 - DESENVOLVIMENTO DA LINHAGEM ERITROCITÁRIA.



Estudos realizados nestas várias fases de diferenciação celular, indicaram que as células adquirem sensibilidade à ação da eritropoetina entre a BFU-E primitiva e a BFU-E madura. Após o estágio de proeritroblastos, mas antes da formação dos reticulócitos, esta sensibilidade é perdida^(91).

A CFU-E é uma célula derivada da BFU-E madura, porém com uma velocidade de divisão bem maior. A CFU-E é responsiva a pequenas concentrações de eritropoetina e juntamente com os proeritroblastos são considerados células-alvo para a atuação do hormônio. Quando os níveis de eritropoetina aumentam, é o compartimento da CFU-E que mais se expande^(1, 47).

Existe uma relação direta entre o número de receptores na superfície celular e a intensidade da resposta à eritropoetina. A CFU-E exibe o maior número de receptores (ao redor de 1000) por célula, enquanto os reticulócitos praticamente não apresentam receptores para a eritropoetina em sua superfície celular^(93, 133, 99).

A atuação da eritropoetina na sobrevivência da CFU-E não está relacionada a efeitos na mitose ou diferenciação celular. A eritropoetina causa um atraso na clivagem do DNA, retardando a morte celular programada (apoptose)^(89).

Alguns estudos, utilizando doses elevadas de eritropoetina, obtiveram aumento da trombopoiese *in vivo* e *in vitro*. Além disso, foram descritos receptores para eritropoetina em megacariócitos. Todavia, a importância da eritropoetina na produção de plaquetas parece ser pequena⁽¹⁾.

3.6 - ERITROPOETINA RECOMBINANTE HUMANA

A partir da descoberta do gene da eritropoetina e com o auxílio de técnicas de biologia molecular foi possível a produção da eritropoetina recombinante.

Inicialmente, com auxílio da enzima tripsina, a eritropoetina foi digerida em pequenas porções peptídicas. A seqüência de aminoácidos foi esclarecida, as bases do ácido desoxiribonucleico (DNA) foram determinadas e criou-se então um segmento de gene artificial. O próximo passo foi inserir este gene em uma bactéria. O oligonucleotídeo foi marcado com isótopo radioativo, para possibilitar sua localização na mesma seqüência do genoma humano^(34).

Foram analisadas várias colônias de bactérias que abrigavam o marcador radioativo. Uma delas, identificada pela grande quantidade do marcador, continha todo o gene da eritropoetina. O gene foi, então, removido quimicamente e inserido em diferentes linhagens de cultura. As células de cultura que melhor se adaptaram foram provenientes de ovários de fêmeas de *hamsters* chineses⁽³⁴⁾.

A eritropoetina isolada apresenta alto grau de pureza e é fornecida em uma solução tamponada. A análise da eritropoetina urinária humana e da eritropoetina recombinante revelou a mesma seqüência de aminoácidos. Além disso, a porção carboidrato da molécula e a atividade biológica e imunológica são idênticas^(53)

3.7 - PRIMEIRAS EXPERIÊNCIAS CLÍNICAS -

No final de 1986 e início de 1987, foram relatados os resultados dos primeiros estudos clínicos com a eritropoetina recombinante humana.

Winearls e colaboradores^(157) estudaram dez pacientes mantidos em hemodiálise. A eritropoetina foi administrada por via endovenosa, em doses

crescentes que variaram de 3 a 192 UI/kg de peso por semana. Todos os pacientes apresentaram aumento de reticulócitos e da concentração da hemoglobina. Durante o estudo, um paciente desenvolveu encefalopatia hipertensiva e dois deles tiveram suas fístulas arterio-venosas trombosadas.

Eschbach e colaboradores estudaram a resposta clínica em 25 pacientes portadores de insuficiência renal crônica e que apresentavam anemia^(53). A eritropoetina foi aplicada endovenosamente, em doses de 15 até 500 UI/kg de peso, três vezes por semana. Houve resposta de todos os pacientes, com aumento do hematócrito, abolição de transfusões sanguíneas e aumento da captação de ferro pelo eríttron. Quatro pacientes apresentaram hipertensão arterial, um deles com crise convulsiva associada. A maioria aumentou o potássio e creatinina séricos e houve um óbito ocasionado por provável hipercalemia.

Estes estudos pioneiros demonstraram a eficácia da eritropoetina recombinante humana. Não obstante, cinco questões foram identificadas^(57). Primeiramente, em torno de 25% dos pacientes desenvolveram aumento dos níveis de pressão arterial, com modificações conseqüentes na terapêutica anti-hipertensiva. Em segundo lugar, ocorreram crises convulsivas em dois destes primeiros 35 pacientes tratados. Foi detectada deficiência de ferro em dois terços dos pacientes, limitando a eficiência da droga. Ainda, existiram dúvidas quanto à adequação do tratamento hemodialítico em pacientes com hematócrito mais alto. Finalmente, levantou-se a possibilidade de aumento de trombozes vasculares, particularmente do acesso venoso, em paralelo com o aumento do hematócrito.

OBJETIVOS

1. Avaliar a eficácia da eritropoetina recombinante humana no tratamento da anemia de pacientes com insuficiência renal crônica mantidos em hemodiálise.
2. Determinar a utilidade do protocolo de doses crescentes de eritropoetina recombinante humana no tratamento da anemia de pacientes hemodialisados cronicamente.
3. Detectar a ocorrência de reações adversas durante o tratamento com a eritropoetina recombinante humana.
4. Analisar fatores responsáveis por resposta insatisfatória ao uso de eritropoetina recombinante humana .

MATERIAL E MÉTODOS

1. CASUÍSTICA

Foi realizado um estudo prospectivo, não aleatório, aberto, de pacientes portadores de insuficiência renal crônica, mantidos sob tratamento hemodialítico. Todos os pacientes eram provenientes do Serviço de Nefrologia do Hospital das Nações de Curitiba, Estado do Paraná, e foram informados detalhadamente sobre o protocolo de estudo.

Foram selecionados vinte e três pacientes estáveis, virtualmente anúricos, que realizavam hemodiálise, com três sessões semanais, quatro horas por sessão. Três pacientes não completaram o estudo e foram excluídos da análise: dois por transplante renal no terceiro mês e um por transferência para outro serviço de hemodiálise no segundo mês de estudo.

A média de idade dos pacientes foi de $44,9 \pm 12,25$ anos, variando de 31 a 69 anos de idade. Onze pacientes eram do sexo feminino e nove do sexo masculino. A doença renal primária era nefroesclerose hipertensiva em quatro pacientes, nefropatia obstrutiva em outros quatro, glomerulonefrite crônica em

três, nefropatia diabética em dois, nefropatia lúpica e nefrite túbulo-intersticial crônica com um paciente cada e cinco pacientes com insuficiência renal crônica de causa indeterminada. Todos os pacientes possuíam seus rins nativos. O tempo de permanência no programa de hemodiálise foi em média de $3,05 \pm 1,43$ anos. O período total de estudo foi de 6 meses, de setembro de 1995 a fevereiro de 1996.

A dieta e a prescrição médica dos pacientes não foram modificadas durante o estudo. Todos os pacientes utilizavam por via oral suplementação de vitaminas do grupo B, ácido fólico, sulfato ferroso (200 a 300 mg/dia) e carbonato de cálcio como quelante de fósforo. Nove pacientes no início do estudo usavam medicação anti-hipertensiva.

1.1 - SELEÇÃO DOS PACIENTES -

Foram utilizados os seguintes critérios de inclusão :

- Paciente em hemodiálise por pelo menos 3 meses.
- Hematócrito menor que 24 %.
- Mais do que cinco transfusões de concentrados de hemácias nos doze meses anteriores ao estudo.
- Pacientes com angina ou insuficiência cardíaca agravadas pela anemia.

- Idade maior que 18 e menor que 70 anos.
- Ausência de gravidez.

Os critérios de exclusão foram :

- Anemias de outra causa ou perdas sanguíneas repetidas.
- Hipertensão arterial com pressão diastólica maior que 110mm Hg.
- Baixa aderência ao tratamento dietético e hemodialítico.

O tratamento seria interrompido nas seguintes situações :

- Doença grave intercorrente.
- Transplante renal.
- Reação grave ou de fundo alérgico que pudesse ser atribuída ao uso de eritropoetina.
- Hipertensão arterial não controlada, com níveis de pressão diastólica acima de 110 mmHg, surgida durante o tratamento.
- Encefalopatia hipertensiva ou crises convulsivas associadas à hipertensão arterial.
- Acidente vascular encefálico, isquêmico ou hemorrágico.

1.2 - AVALIAÇÃO CLÍNICA -

Todos os pacientes foram submetidos a uma consulta de seleção trinta dias antes do início do estudo e a avaliações mensais posteriormente, durante todo o período de acompanhamento.

Em cada consulta era realizada anamnese e exame físico completos e a ocorrência de possíveis efeitos colaterais era pesquisada a cada retorno.

A pressão arterial foi medida com esfigmomanômetro de mercúrio, estando o paciente sentado, imediatamente antes e logo após a realização de cada sessão de hemodiálise. O registro da pressão arterial diastólica foi feito na fase V dos sons de Korotkoff. A pressão arterial média foi calculada pela fórmula :

$$\text{Pressão Arterial Diastólica} + \frac{(\text{Pressão Arterial Sistólica} - \text{Pressão Arterial Diastólica})}{3}$$

3

O peso foi aferido antes e após cada hemodiálise, com o paciente com sua vestimenta habitual, em uma balança antropométrica. Para a análise de pressão arterial e peso, foram considerados os valores da segunda hemodiálise da semana, na segunda quinzena de cada mês.

2. MÉTODOS

2.1 - AVALIAÇÃO LABORATORIAL -

Os exames complementares foram realizados no início do tratamento e, a seguir, mensalmente. Após um período noturno de jejum, a coleta de sangue era feita antes da sessão de hemodiálise, com a punção da fístula arteriovenosa. A uréia pós-hemodiálise era obtida dessa punção, dois minutos após o término do procedimento.

A uréia plasmática foi dosada pelo método enzimático colorimétrico da urease⁽⁷¹⁾. Para o cálculo da porcentagem da redução de uréia pós-hemodiálise foi utilizada a seguinte fórmula⁽¹¹⁸⁾:

Porcentagem de Redução da Uréia (PRU) =

$$\frac{\text{Concentração de uréia pré-hemodiálise} - \text{Concentração de uréia pós-hemodiálise}}{\text{Concentração de uréia pré-hemodiálise}} \times 100$$

O índice Kt / V é uma medida da quantidade de plasma depurado de uréia na unidade de tempo, dividido pelo volume de distribuição da uréia. Foi calculado utilizando-se a fórmula de Basile e colaboradores⁽¹⁸⁾:

$$Kt / V = 0,023 \times \text{Porcentagem de Redução da Uréia (PRU)} - 0,284.$$

O potássio sérico foi medido por fotometria de chama e o fosfato inorgânico sérico, pelo método de Goldemberg e Fernandez⁽³³⁾.

O ferro sérico foi determinado pelo método de Schade, Oyama e colaboradores^(69). O índice de saturação de transferrina foi calculado empregando-se o ferro sérico e sua capacidade total de ligação, pela seguinte equação⁽⁷⁵⁾ :

Índice de Saturação da Transferrina (%) =

$$\frac{\text{Ferro Sérico}}{\text{Capacidade Total de Ligação do Ferro}}$$

Os reticulócitos foram determinados pelo método do azul-cresil brilhante e corrigidos de acordo com o hematócrito do paciente^(24) :

$$\text{Índice de Reticulócitos} = \text{Reticulócitos contados (\%)} \times \frac{\text{Hematócrito do Paciente}}{\text{Hematócrito Normal (40)}}$$

O hematócrito foi medido pela técnica de microhematócrito e a albumina pela técnica do verde de bromocresol⁽¹⁷⁾.

2.2 - TÉCNICA DE HEMODIÁLISE -

O acesso venoso para a hemodiálise era feito por meio de punções em fístulas arteriovenosas criadas cirurgicamente em membros superiores.

Os pacientes eram hemodialisados em máquinas de proporção e em máquinas duplas, sistema de tanque com recirculação de passagem única.

O dialisador tinha superfície média de 1,0 a 1,3 m² e era constituído por membrana de cuprofone ou de acetato de celulose. Estes dialisadores eram reusados e desprezados sempre que seu volume de enchimento estivesse abaixo de 80% do volume inicial.

O fluxo da bomba de sangue variava de 250 a 300 ml/minuto e o fluxo da solução de diálise, em contra-corrente, foi fixado em 500 ml/minuto. A pressão transmembrana era ajustada de acordo com o ganho de peso inter-dialítico apresentado pelo paciente.

A dose de heparina utilizada foi de 100 UI/kg de peso no início da hemodiálise e de 50 UI/kg como dose complementar na segunda hora. No caso de existir sinais de coagulação do dialisador durante as sessões de hemodiálise, aumentava-se em 10% a dose de heparina utilizada.

2.3 - ADMINISTRAÇÃO DE ERITROPOETINA -

A eritropoetina utilizada foi fornecida pelo Programa de Medicamentos Especiais da Secretaria de Saúde do Estado do Paraná e foi produzida por técnica de DNA recombinante. Foram empregadas no estudo, de modo aleatório, duas preparações do hormônio. Uma fornecida em solução tamponada e estéril na concentração de 4000 UI/ml (Eprex® - Cilag), mantida até seu uso em

refrigeração de 4 a 8°C, e outra fornecida em solução liofilizada em concentrações de 2000 e 4000 UI/ml (Hemax-Eritron® - Biosintética). A administração foi feita pela cânula de punção venosa, ao final de cada sessão de hemodiálise.

A eritropoetina recombinante humana foi usada na dose inicial de 75 UI/kg de peso corporal, por semana, para todos os pacientes. Se após o primeiro mês de tratamento o hematócrito atingisse 30% (equivalente a hemoglobina de 10 g/dl), esta dose era mantida até o final do estudo. Porém, se este valor não fosse atingido, a dose era aumentada mensalmente em 25 UI/kg até atingir uma dose máxima de 150 UI/kg por semana.

2.4 - ADMINISTRAÇÃO DE FERRO ENDOVENOSO -

O critério para a administração de ferro endovenoso foi a ocorrência de queda na saturação de transferrina para valores abaixo de 20%. Foram utilizadas ampolas de 5ml com 100mg de ferro, sob forma de complexo coloidal de sacarato de hidróxido de ferro (Noripurum® , Byk Química). Após a sessão de hemodiálise, era infundida uma ampola pela cânula da punção, de forma lenta e a infusão era repetida nas próximas sessões até a dose total de 5 ampolas.

2.5 - ANÁLISE ESTATÍSTICA -

Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão ($\bar{x} \pm s$). A significância das diferenças entre as médias foi determinada pelo teste t de Student para amostras pareadas e independentes.

Foi também aplicada a técnica de análise de dados longitudinais, desenvolvida por Jones⁽⁸¹⁾. Esta consiste basicamente em ajustar um modelo polinomial que explique satisfatoriamente o comportamento de um fenômeno ao longo do tempo.

Foram obtidos coeficientes de correlação entre diversas variáveis e o hematócrito. Foi ajustada uma reta de regressão linear para ilustrar graficamente a relação entre as variáveis.

A hipótese de nulidade foi rejeitada sempre que $p < 0,05$.

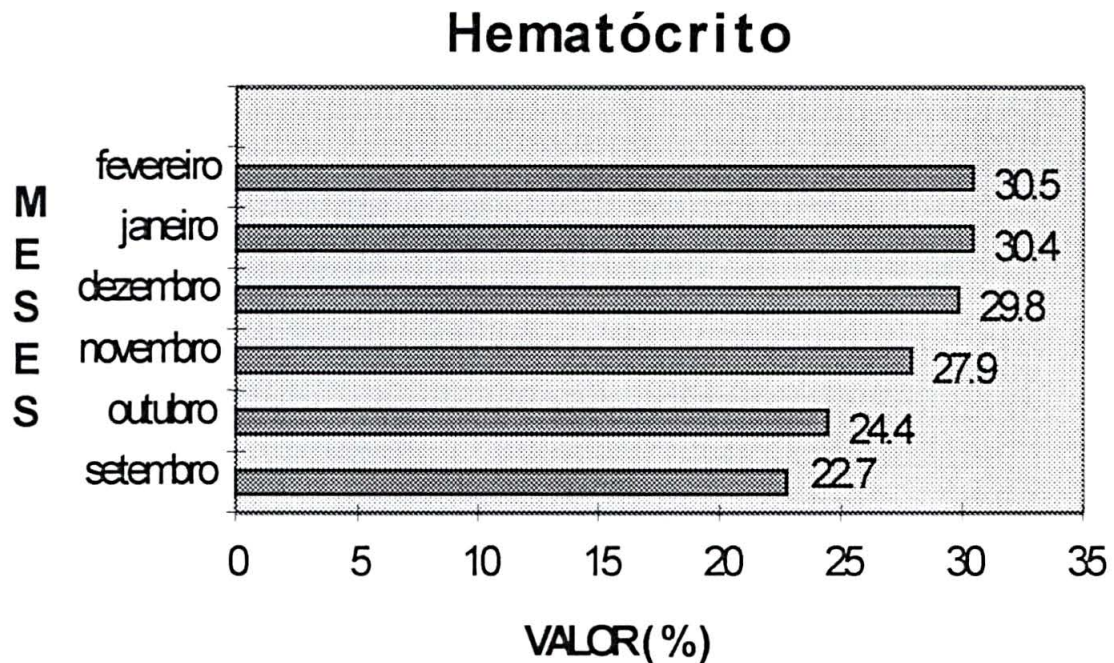
RESULTADOS

1. HEMATÓCRITO -

Após as primeiras quatro semanas de tratamento com a eritropoetina recombinante humana, dois pacientes atingiram hematócrito igual ou superior a 30%. Ao término da oitava semana de tratamento, sete pacientes (35%) tinham hematócrito maior ou igual a 30%. Ao final do tratamento, 14 pacientes (70%) obtiveram o hematócrito desejado ou superior, 3 pacientes alcançaram valores entre 26 a 28% e 3 pacientes apresentaram hematócrito entre 23 e 24%. Um paciente começou o estudo com hematócrito de 30%.

A evolução do hematócrito de todos os pacientes está representada na figura 3. No início do estudo, o hematócrito médio do grupo era de $22,78 \pm 3,64$ ml/dl. Ao final, elevou-se para $30,50 \pm 4,35$ ml/dl ($p < 0,0001$). O aumento do hematócrito tornou-se estatisticamente significativo, em relação ao basal, no segundo mês de tratamento (setembro vs . novembro, $p < 0,0001$).

FIGURA 3 - EVOLUÇÃO DO HEMATÓCRITO (MÉDIA DO GRUPO).



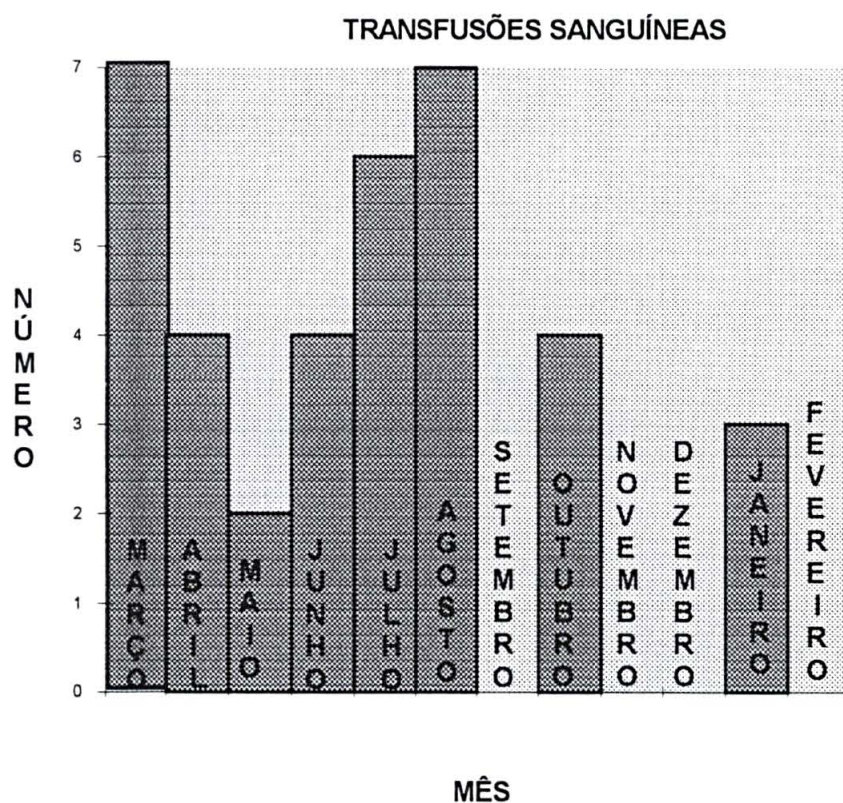
2. TRANSFUSÕES SANGUÍNEAS -

Nos seis meses que antecederam o estudo, doze pacientes não necessitaram de transfusões sanguíneas. Os oito pacientes restantes receberam entre duas a sete unidades de concentrados de hemácias, totalizando 30 unidades. A quantidade de concentrados de hemácias transfundidas para estes

oito pacientes foi de $3,75 \pm 1,48$ unidades por paciente/mês. Após o início da eritropoetina recombinante humana, apenas dois pacientes necessitaram de transfusões sanguíneas: um caso associado à metrorragia grave e outro relacionado à hemorragia digestiva alta de grande monta, com instabilidade hemodinâmica. Nestes dois episódios, foram utilizadas 7 unidades de concentrados de hemácias (figura 4).

Para o grupo, o número de concentrados de hemácias transfundidas decresceu de $1,5 \pm 2,09$ unidades por paciente/mês no início do estudo para $0,35 \pm 1,08$ no final, diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$).

FIGURA 4 - TRANSFUSÕES ANTES E APÓS O USO DE ERITROPOETINA.



3. ÍNDICE DE RETICULÓCITOS -

O índice de reticulócitos aumentou durante o estudo. No início, o valor médio do grupo era de $1,31 \pm 0,59$, atingindo valores estatisticamente significativos em relação aos valores basais na décima semana de tratamento ($p < 0,05$). Ao final do tratamento, o índice de reticulócitos foi de $1,88 \pm 0,61$ ($p < 0,004$, em relação ao valor basal).

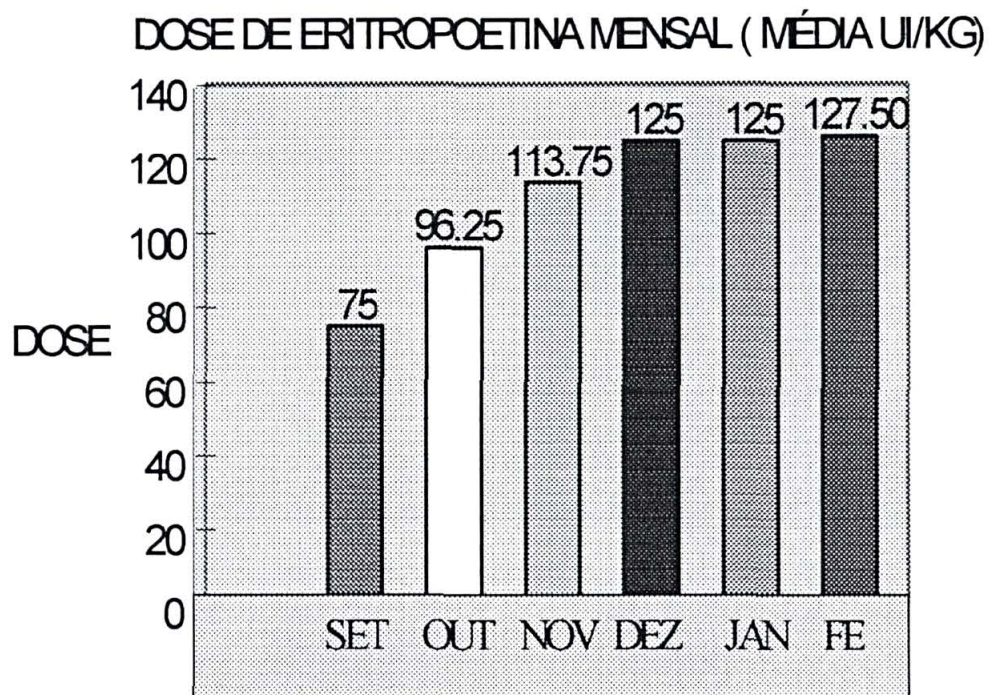
4. DOSE DE ERITROPOETINA -

De acordo com o protocolo estabelecido, todos os pacientes iniciaram o estudo com dose de eritropoetina de 75 UI/kg de peso corporal por semana, durante quatro semanas. Houve um aumento progressivo da dose de eritropoetina, de acordo com a resposta clínica obtida.

Ao final do estudo, 3 pacientes ainda utilizavam 75 UI de eritropoetina por kg de peso por semana, 3 pacientes usavam 100 UI/kg de peso, 3 utilizavam 125 UI/kg de peso e 11 pacientes utilizavam 150 UI de eritropoetina recombinante humana por kg de peso corporal. A dose média de eritropoetina no último mês de estudo foi de 127,50 UI/kg por semana.

A figura 5 representa a dose média mensal durante o estudo.

FIGURA 5 - DOSE DE ERITROPOETINA MENSAL (MÉDIA DO GRUPO).



5. DOSE DE FERRO UTILIZADA, FERRO SÉRICO E SATURAÇÃO DA TRANSFERRINA -

Todos os pacientes receberam sulfato ferroso por via oral, em doses médias de 200 a 400mg ao dia. Além disso, quando a saturação da transferrina atingia valor inferior a 20%, era administrado ferro endovenoso. A dose média de ferro parenteral administrada a cada paciente foi de 825 ± 568 mg, sendo que 3

pacientes não fizeram uso do mesmo, 6 pacientes utilizaram 500mg de ferro, 8 pacientes utilizaram 1g, 1 paciente necessitou de 1,5g de ferro e 2 receberam 2g de ferro. Não existiram efeitos colaterais relacionados ao uso de ferro endovenoso

Ao longo do estudo não houve variação significativa no ferro sérico e no índice de saturação de transferrina (tabela 1).

TABELA 1 - METABOLISMO DO FERRO - (MÉDIA DO GRUPO)

VARIÁVEL	PRÉ - ESTUDO	FINAL DO ESTUDO	NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA (p)
Ferro sérico	78,94 ± 34,94	72,63 ± 33,10	0,48
Saturação da Transferrina	25 ± 12,22	24,88 ± 13,47	0,96

6. POTÁSSIO, FÓSFORO E CÁLCIO SÉRICOS -

O potássio sérico apresentou um aumento estatisticamente significativo, quando comparados os valores iniciais com os observados ao término do estudo. Não houve diferença significativa dos níveis de fósforo e cálcio séricos durante o

tratamento com eritropoetina recombinante humana (tabela 2).

TABELA 2 - ELETRÓLITOS - (MÉDIA DO GRUPO)

VARIÁVEL	PRÉ - ESTUDO	FINAL DO ESTUDO	NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA (p)
Potássio	4,66 ± 0,74	5,15 ± 0,69	0,01*
Fósforo	4,72 ± 1,81	4,98 ± 1,66	0,29
Cálcio	8,99 ± 1,04	9,35 ± 1,23	0,28

7. ADEQUAÇÃO DA HEMODIÁLISE -

Não houve diminuição da eficiência do procedimento hemodialítico durante o estudo, quando avaliada pelo percentual de redução da uréia (PRU) e pelo índice Kt / V, obtido pela equação de Basile e colaboradores, como representado na tabela 3. A albumina aumentou significativamente ($p < 0,0001$), quando comparados valores pré e pós-tratamento.

TABELA 3 - ADEQUAÇÃO DA HEMODIÁLISE - (MÉDIA DO GRUPO)

VARIÁVEL	PRÉ - ESTUDO	FINAL DO ESTUDO	NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA (p)
PRU	57,55 ± 8,59	60,01 ± 6,68	0,07
Kt / V	1,02 ± 0,21	1,09 ± 0,15	0,07
Albumina	3,89 ± 0,44	4,57 ± 0,35	0,0001*

8. PESO CORPORAL -

O peso dos pacientes manteve-se constante durante os seis meses do estudo, tanto na avaliação pré-dialítica como pós-dialítica (tabela 4).

TABELA 4 - PESO DOS PACIENTES (MÉDIA DO GRUPO)

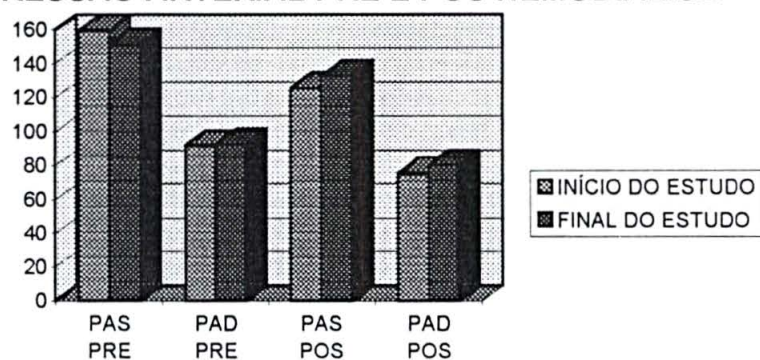
VARIÁVEL	PRÉ - ESTUDO	FINAL DO ESTUDO	NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA (p)
Peso pré-diálise	61,74 ± 12,38	61,48 ± 12,61	0,54
Peso pós-diálise	59,37 ± 12,16	59,42 ± 11,95	0,91

9. PRESSÃO ARTERIAL -

Não houve alteração significativa da pressão arterial sistólica e diastólica em todos os pacientes durante o período de estudo. Não houve também variação quando analisados valores pré e pós-hemodiálise (figura 6).

FIGURA 6 - EVOLUÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL.

PRESSAO ARTERIAL PRÉ E PÓS HEMODIÁLISE



PRESSÃO ARTERIAL (P.A.)	INÍCIO	FINAL	p
P.A. Sistólica pré-hemodiálise(PASPRE)	159,47 ± 22,72	151,57 ± 18,63	0,20
P.A. Diastólica pré-hemodiálise(PADPRE)	91,57 ± 7,64	92,63 ± 8,71	0,68
P.A. Sistólica pós-hemodiálise(PASPOS)	125,26 ± 20,64	132,63 ± 28,83	0,22
P.A. Diastólica pós-hemodiálise(PADPOS)	75,26 ± 12,18	80 ± 14,14	0,16

10. EFEITOS COLATERAIS -

Os efeitos colaterais observados durante o tratamento com eritropoetina recombinante humana estão resumidos na tabela 5. Não foram observados casos de trombose de fístula arteriovenosa, crises convulsivas, mialgias, febre ou dor pós-administração de eritropoetina ou ainda necessidade de aumento da dose de heparina durante as sessões de hemodiálise.

TABELA 5 - EFEITOS COLATERAIS DA ERITROPOETINA

VARIÁVEL	N	%
Diminuição da saturação de transferrina	17	85
Hiperpotassemia (maior que 5,5 mEq/l)	11	55
Hiperemia conjuntival	05	20

11. CORRELAÇÕES DO HEMATÓCRITO COM DIVERSAS VARIÁVEIS -

O hematócrito foi correlacionado com as seguintes variáveis: pressão arterial média (PAM) pré e pós-hemodiálise, albumina, porcentagem de redução

de uréia e saturação da transferrina (tabela 6). Notamos apenas uma correlação inversa fraca com a saturação da transferrina e a porcentagem de redução da uréia.

TABELA 6 - ANÁLISE DAS CORRELAÇÕES DO HEMATÓCRITO.

VARIÁVEL	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO (r)	p
PAM PRE	0,09	0,26
PAM POS	0,08	0,72
Albumina	-0,13	0,44
PRU	-0,45	0,08
Saturação da transferrina	-0,54	0,07

12. COMPARAÇÃO ENTRE O GRUPO COM HEMATÓCRITO MAIOR OU IGUAL A 30% E MENOR QUE 30% -

Foram comparados o grupo que atingiu hematócrito igual ou maior que 30 mg/dl com o que não obteve este valor. Os resultados estão sumarizados na tabela 7.

TABELA 7 - COMPARAÇÃO ENTRE GRUPO COM HEMATÓCRITO (H.T.)
MAIOR OU IGUAL A 30% E MENOR QUE 30%.

VARIÁVEL	H.T. \geq 30% (n = 14)	H.T. < 30 % (n = 6)	p
IDADE	47,50 \pm 13,27	38,83 \pm 7,02	0,15
SEXO (M / F)	7 / 7	2 / 4	0,51
TEMPO EM HEMODIÁLISE	2,60 \pm 1,38	3,66 \pm 1,63	0,15
H.T. INICIAL	23,85 \pm 3,54	20,16 \pm 1,94	0,02 *
H.T. FINAL	32,71 \pm 2,67	25,33 \pm 1,96	0,0001*
% AUMENTO V.G.	39,69 \pm 21,75	26,03 \pm 9,15	0,15
FERRO SÉRICO	67,79 \pm 14,14	85,36 \pm 13,78	0,04*
ÍNDICE DE RETICULÓCITOS	1,84 \pm 0,65	1,82 \pm 0,45	0,95
TRANSFUSÕES PRÉ-ESTUDO	1,36 \pm 1,69	1,83 \pm 2,99	0,65
CÁLCIO	9,49 \pm 0,74	9,62 \pm 1,18	0,76
FÓSFORO	4,49 \pm 1,37	5,20 \pm 1,98	0,36
PRU	55,59 \pm 5,51	60,16 \pm 6,71	0,12

DISCUSSÃO

A disponibilidade da eritropoetina recombinante humana para o tratamento da anemia associada à insuficiência renal crônica trouxe uma melhora considerável na qualidade de vida dos pacientes^(86, 59, 55). O aumento da oxigenação tissular, que ocorre quando a anemia é corrigida, melhora muitos dos sintomas previamente atribuídos à uremia^(67). Embora pequenas reduções na sobrevida eritrocitária e presença de inibidores da eritropoese possam contribuir para a gênese da anemia, a resposta rápida e uniforme à eritropoetina torna-os de relevância secundária.

Os efeitos benéficos da eritropoetina são numerosos. Têm sido relatados: melhora da capacidade física e da sensação de bem estar, mesmo com a correção parcial da anemia^(62, 70, 124); regressão da hipertrofia de ventrículo esquerdo^(121, 137, 74); aumento da função cognitiva e eletrofisiológica cerebral^(113); melhora da hemostasia^(150); diminuição nos sintomas de doença isquêmica coronariana, inclusive com melhora do eletrocardiograma^(107); maior tolerância ao tratamento hemodialítico, com redução dos episódios de hipotensão^(141); aumento

da libido e função sexual^(134, 124); melhora da textura da pele e diminuição do prurido^(60, 40).

O nosso estudo demonstrou que a eritropoetina recombinante humana foi eficaz em corrigir a anemia associada à insuficiência renal crônica terminal nos 20 pacientes. O hematócrito médio do grupo ao final do estudo foi de 30,50%, com 14 (70%) pacientes atingindo valor igual ou superior a 30%. A dose média de eritropoetina ao final do tratamento foi de 127,50 UI/kg de peso, por via intravenosa, dividida em três vezes, a cada semana.

Eschbach e colaboradores⁽⁵⁷⁾, em um estudo multicêntrico com duração de 12 semanas, obtiveram um hematócrito médio de 35% em 97,4% dos 333 pacientes estudados. A eritropoetina foi utilizada por via intravenosa e em 83% dos casos ela foi menor ou igual que 150 UI/kg de peso por semana. Romão Júnior⁽¹³⁰⁾ e colaboradores estudaram a eficácia da eritropoetina em 25 pacientes portadores de insuficiência renal crônica mantidos em programa de hemodiálise, em cinco unidades de diálise brasileiras. Após 12 semanas de tratamento, observaram valores de hemoglobina iguais ou superiores a 10 g/dl em 15 pacientes (60% dos casos), com dose média semanal de eritropoetina de 225 UI/kg de peso ao final do estudo.

Existe uma correlação direta entre a dose de eritropoetina utilizada e o aumento do hematócrito. A maior parte dos ensaios clínicos com a eritropoetina

recombinante humana tem procurado atingir hematócrito entre 30 a 32%, com doses variando entre 75 a 250 UI/kg por semana^(57, 31, 122, 59). A racionalidade para a escolha deste hematócrito-alvo baseia-se em uma tentativa de equilíbrio entre os benefícios e o riscos do tratamento. Todavia, alguns estudos mostram que a melhora da qualidade de vida, do percentual de reabilitação para o trabalho e de alguns parâmetros fisiológicos cardiovasculares é mais acentuada com hematócritos acima de 30%^(156, 61). Em nossa casuística, oito pacientes apresentaram hematócrito acima de 35% em pelo menos uma mensuração, aparentemente sem efeitos colaterais. Mais estudos são necessários para se determinar o hematócrito ideal durante o tratamento com eritropoetina, inclusive com análise de dados de morbidade e mortalidade a longo prazo.

A administração de eritropoetina por via subcutânea deve ser considerada como primeira escolha em pacientes com insuficiência renal crônica pré-diálise e naqueles tratados com diálise peritoneal^(105, 160, 63, 32). Nos pacientes em hemodiálise, tanto a via subcutânea quanto a endovenosa são efetivas. Porém, a grande maioria dos trabalhos considera que a administração subcutânea é mais custo-efetiva, com utilização de doses 40% menores, em média^(12, 145). Isto se deve a diferenças farmacocinéticas. A injeção endovenosa é caracterizada por um nível plasmático alto e rápida eliminação, enquanto que a injeção subcutânea

possui absorção lenta, levando a um platô de concentração maior que a endovenosa em 24 horas, permanecendo detectável no plasma por até 48 horas^(146). Estudos mais recentes entretanto, utilizando suplementação de ferro por via intravenosa, revelaram não haver diferenças significativas entre as duas vias de administração^(16, 151).

A melhora do hematócrito que ocorre no tratamento com a eritropoetina recombinante humana praticamente acaba com a necessidade de transfusões sanguíneas. Com isto, há um decréscimo nas infecções virais soro-transmitidas, na sensibilização contra antígenos leucocitários humanos (HLA) e em outras complicações clínicas, como a hemossiderose, por exemplo^(56). Nos seis meses que antecederam nosso estudo, oito (40%) dos pacientes receberam em média $3,75 \pm 1,4$ unidades de concentrados de hemácias por paciente/mês. Após o uso de eritropoetina, apenas dois pacientes necessitaram de transfusões sanguíneas. Ambos os casos estavam associados a episódios hemorrágicos graves.

Uma das maneiras de se monitorizar a resposta clínica ao tratamento com a eritropoetina recombinante humana é pela contagem dos reticulócitos, a qual se correlaciona bem com a captação de transferrina pelo erítro^(53). A contagem de reticulócitos é máxima entre uma a quatro semanas do início do tratamento, seguida por um ligeiro declínio posterior para níveis estáveis, entre uma vez e meia a três vezes o valor basal^(152). O índice de reticulócitos em nosso estudo e sua evolução durante o tratamento foi concordante com a literatura.

Reações adversas são relativamente comuns em pacientes hemodialisados cronicamente. Bennet⁽¹⁹⁾ e colaboradores, em um estudo multicêntrico, placebo-controlado, observaram 68% de efeitos adversos no grupo placebo e 63% no grupo tratado com eritropoetina. Existem alguns efeitos colaterais que surgem mais freqüentemente no grupo tratado com eritropoetina recombinante humana (quadro 2). Todavia, o número de pacientes que necessita descontinuar o tratamento é pequeno, algo em torno de 2,5%. Em nosso estudo, nenhum paciente interrompeu o tratamento por apresentar efeitos colaterais.

QUADRO 2 - EFEITOS COLATERAIS DA TERAPÊUTICA COM ERITROPOETINA RECOMBINANTE HUMANA.

- Hipertensão arterial.
 - Diminuição da eficiência da hemodiálise.
 - Diminuição das reservas de ferro corporal.
 - Aumento da coagulação sanguínea.
 - Convulsões.
 - Reações *flu-like*.
 - Hiperemia conjuntival
-

A hipertensão arterial pode surgir ou se acentuar em pacientes tratados com a eritropoetina recombinante humana⁽⁸⁷⁾. Este efeito colateral era

especialmente freqüente durante os dois primeiros anos após a introdução da eritropoetina e parece estar diminuindo nos últimos anos. Eschbach, em 1987⁽⁵³⁾, apresentou incidência de 32%, Schaefer⁽¹³⁴⁾, em 1989, obteve incidência de 20% e Nissenson⁽¹¹⁴⁾, em um estudo cooperativo norte-americano, realizado em 1991, não observou incidência aumentada de hipertensão arterial. No Brasil, Romão Júnior⁽¹³⁰⁾, em 1992, observou aumento dos níveis pressóricos em 12% dos pacientes, não sendo estatisticamente significativa a diferença entre a pressão arterial pré e pós-estudo. Amar⁽⁶⁾ e colaboradores, também em nosso país, em um estudo com 12 pacientes em hemodiálise utilizando eritropoetina por via subcutânea, observaram 4 pacientes com piora ou surgimento de hipertensão arterial. Em nossa casuística, após 24 semanas de tratamento, não observamos diferença estatisticamente significativa entre a pressão arterial no início e no final do estudo. Não houve, também, necessidade de modificação na dose de anti-hipertensivos nos nove pacientes que os utilizavam ao início do estudo.

Fatores de risco para o desenvolvimento de hipertensão arterial incluem hipertensão pré-existente, aumento rápido do hematócrito, hematócrito inicial muito baixo, utilização de doses altas de eritropoetina, presença dos rins nativos e predisposição genética^(126, 87, 79). Todavia, nenhuma associação consistente entre estes parâmetros pôde ser provada unanimemente. Na análise de correlação realizada em nosso estudo, não observamos dependência entre o aumento do

hematócrito e o desenvolvimento de hipertensão arterial ($r = 0,08$, $p < 0,72$).

Indivíduos normais ou pacientes com anemia associada ao mieloma múltiplo⁽¹⁰⁴⁾, artrite reumatóide⁽¹²²⁾ ou síndrome de imunodeficiência adquirida⁽⁶⁴⁾ não apresentam aumento de pressão arterial associada ao tratamento com eritropoetina.

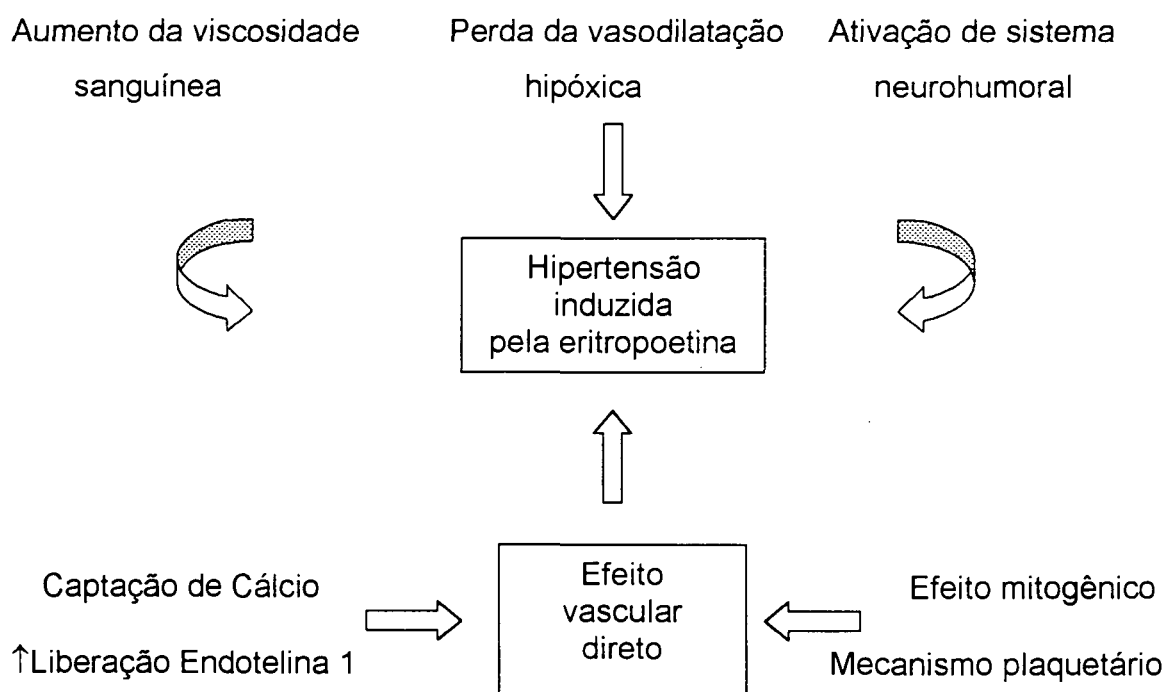
Existem vários mecanismos que podem estar implicados na gênese da hipertensão arterial após o início do tratamento com a eritropoetina recombinante humana no paciente nefropata crônico. O volume sanguíneo permanece inalterado durante o tratamento com a eritropoetina, já que ocorre diminuição do volume plasmático concomitante ao aumento do hematócrito⁽⁷⁶⁾. Estudos hemodinâmicos mostram uma diminuição no débito cardíaco e aumento da resistência vascular periférica. Notou-se também que a alteração da resistência vascular é igual para os pacientes que desenvolvem hipertensão ou que permanecem normotensos, mas que a diminuição do débito cardíaco é mais acentuada nos pacientes normotensos⁽¹⁵²⁾.

Vários fatores podem ser responsabilizados pelo aumento da resistência vascular periférica. O aumento da viscosidade sanguínea e a reversão da vasodilatação hipóxica são importantes agentes causais, porém não explicam totalmente o quadro^(57, 126). Uma ação vasoconstritora direta da eritropoetina é

improvável, já que não existem receptores para a mesma em células musculares lisas de vasos sanguíneos e não foi detectado efeito pressor imediato após sua administração^(126). Existe alguma evidência de alterações na homeostase do cálcio intra-celular em miócitos e plaquetas^(126, 100) e de liberação de hormônios vasoativos, especialmente a endotelina^(100, 29).

A figura 7 resume os mecanismos possíveis de hipertensão arterial no tratamento com eritropoetina recombinante humana.

FIGURA 7 - MECANISMOS DA HIPERTENSÃO ASSOCIADA AO TRATAMENTO COM ERITROPOETINA RECOMBINANTE HUMANA.



Vários trabalhos analisaram a adequação do tratamento hemodialítico durante o tratamento com a eritropoetina recombinante humana. Os resultados são heterogêneos. Em alguns, a creatinina aumentou 7 a 11%^(53), em outros permaneceu inalterada^(31). O mesmo ocorreu em relação à uréia e ao fósforo^(57, 153). Em nossa análise, não encontramos alteração na porcentagem de redução de uréia pré e pós-tratamento. O índice Kt/V, usado como marcador de eficiência dialítica, também permaneceu inalterado. Apesar de ter havido aumento no hematócrito e conseqüente diminuição do volume plasmático, a grande capacidade de difusão da uréia entre o espaço intra e extra-celular provavelmente impediu a ocorrência de alterações significativas em seu nível plasmático^(113).

O fósforo é um soluto pobremente dialisado. Mesmo assim, e associado ao fato de não alterarmos a prescrição de hemodiálise e nem a dose do carbonato de cálcio utilizado como quelante, os níveis séricos do fósforo não foram diferentes ao final de nosso estudo. Vários autores obtiveram resultado similar^(26, 31, 28).

Embora a significância clínica de pequenos aumentos na dosagem pré-diálise da creatinina e do fósforo séricos seja desprezível, os efeitos da hipercalemia são preocupantes. O aumento do potássio tem sido atribuído a diversos motivos: melhora do apetite com maior ingestão, diminuição na depuração do dialisador ou maior liberação pelo eritrôn no momento da destruição dos eritrócitos senescentes^(134, 57). O potássio aumentou significativamente ao final do

nosso estudo ($4,66 \pm 0,74$ vs. $5,15 \pm 0,69$, $p < 0,01$). O nível sérico de potássio deve ser monitorizado cuidadosamente e os pacientes devem ser alertados sobre a necessidade de utilizar uma dieta pobre em potássio.

Além da depuração da uréia, o estado nutricional é um determinante de mortalidade no paciente submetido à hemodiálise crônica. A concentração plasmática de albumina tem sido utilizada por vários autores para avaliar o risco associado ao déficit nutricional. Valores séricos de albumina abaixo de 4 g/dl aumentam muito o risco de complicações no paciente tratado pela hemodiálise⁽¹¹⁸⁾. Durante os 6 meses de tratamento com eritropoetina recombinante humana, obtivemos um aumento na concentração de albumina, de $3,89 \pm 0,44$ no início para $4,57 \pm 0,35$ no final do estudo ($p < 0,0001$). Kaupke e colaboradores⁽⁸³⁾ observaram um aumento na ingestão diária de proteínas após 10 a 12 meses de tratamento com eritropoetina, embora apenas a quantidade de calorias ingeridas e o consumo de carboidratos tenham alcançado valores estatisticamente significativos. A degradação de proteínas parece também diminuir com o uso da eritropoetina recombinante humana, como demonstrado por trabalhos que utilizaram aminoácidos marcados com radioisótopos⁽⁶⁵⁾. Entretanto, este assunto é ainda bastante controverso, já que a maioria dos estudos, inclusive o nosso, não demonstra aumento de peso associado ao aumento da ingestão protéico-calórica.

Existem dados preliminares que mostraram modificações na composição corporal total na ausência de ganho de peso, com aumento da massa muscular e diminuição das reservas de gordura⁽²⁷⁾.

Na maioria dos pacientes com insuficiência renal crônica terminal, a anemia é corrigida rapidamente com o uso da eritropoetina recombinante humana. No início do tratamento, o hematócrito pode aumentar 1 a 2% por semana. Esta atividade eritropoética só é possível quando existem quantidades apropriadas de ferro na medula óssea⁽¹⁵⁸⁾. Mesmo depósitos adequados de ferro corporal total no início do tratamento podem tornar-se insuficientes durante a terapêutica. Alguns autores relatam até 90% de depleção dos estoques de ferro entre os pacientes que utilizam eritropoetina⁽¹³⁵⁾.

A monitorização da reserva de ferro corporal pode ser feita de várias maneiras, incluindo dosagem de ferritina⁽¹¹¹⁾, determinação da saturação da transferrina⁽¹³¹⁾ e da porcentagem de eritrócitos hipocrômicos⁽¹⁰⁸⁾. A mais utilizada é a saturação de transferrina, que mede a quantidade de ferro liberada à medula óssea para eritropoese. Níveis menores que 20% indicam deficiência de ferro.

Dezessete pacientes (85%) apresentaram saturação de transferrina abaixo de 20% durante nosso estudo, em pelo menos uma ocasião. Mesmo com o uso de sais de ferro via oral, fez-se necessária a utilização adicional de ferro por via

endovenosa. A dose média administrada a cada paciente foi de 825 ± 568 mg. A absorção intestinal de ferro é normal no paciente nefropata crônico. Todavia, a absorção e a disponibilidade variam com diferentes preparações, e de paciente para paciente^(5). Além disto, efeitos colaterais gastrointestinais são mais freqüentes quando se utilizam doses maiores. Conseqüentemente, vários autores têm recomendado a suplementação rotineira de ferro por via endovenosa. Schaefer e Schaefer^(135), assim como outros pesquisadores^(3,106), demonstraram uma redução na dose de eritropoetina de até 50% com a utilização de ferro endovenoso. Acreditamos que a dose baixa de eritropoetina utilizada em nosso estudo, 110 UI/kg em média durante o estudo e 127,5 UI/kg no final do mesmo, seja em parte devida à utilização liberal de ferro por via endovenosa.

O aumento da coagulação do dialisador e a trombose da fístula arteriovenosa, relacionados à redução do tempo de sangramento, elevação da viscosidade sanguínea e trombocitose, foi descrita freqüentemente nos primeiros estudos com a eritropoetina^(53, 57). Atualmente, estes dados são questionados^(9, 139). Um estudo multicêntrico canadense demonstrou risco aumentado de trombose apenas em fístulas que utilizavam enxerto de politetrafluoroetileno^(100). Uma análise de várias unidades de diálise nos Estados Unidos revelou que, embora a taxa de internação hospitalar por problemas relacionados ao acesso vascular tenha aumentado nos últimos anos, este

acréscimo não pôde ser atribuído ao uso de eritropoetina^(100). Em nosso estudo, não observamos problemas relacionados às fístulas arteriovenosas ou coagulação dos hemodialisadores.

Nenhum dos pacientes em nosso estudo apresentou convulsões. Os primeiros ensaios clínicos com a eritropoetina recombinante humana relataram incidência de 10% de crises convulsivas, possivelmente relacionadas à hipertensão arterial acelerada, resultante de aumentos rápidos do hematócrito nos primeiros meses de terapêutica^(53, 157). Com a obtenção de maior experiência clínica, utilização de doses menores e monitorização mais cuidadosa da pressão arterial, esta taxa caiu para 5%, aparentemente igual à incidência observada em pacientes tratados por hemodiálise que não utilizam eritropoetina^(125).

Uma reação “gripal-símile”, caracterizada por mialgias, calafrios e sudorese na ausência de febre, foi relatada em freqüência de até 6% em alguns estudos. Habitualmente aparece dentro de duas horas da aplicação da eritropoetina e não costuma durar mais que 12 horas^(28). A causa é desconhecida, porém na maioria dos casos cessa com a continuação da terapêutica.

Em alguns estudos, a correção do hematócrito com o uso da eritropoetina recombinante humana foi associada com o desenvolvimento de hiperemia conjuntival bilateral, indolor e com culturas bacterianas negativas^(57). Em nossa

casuística, 5 pacientes (20%) apresentaram pelo menos um episódio, durante o primeiro ou segundo mês de terapêutica, com desaparecimento espontâneo posterior.

Em uma minoria dos pacientes ocorre uma resposta insatisfatória ao uso da eritropoetina recombinante humana. A causa mais comum é a deficiência de ferro, especialmente quando se desenvolve após o início da terapêutica. Outras causas são citadas, como por exemplo toxicidade pelo alumínio^(82), hiperparatireoidismo com fibrose medular^(127, 115), inflamações ou processos infecciosos crônicos^(98) e inadequação da hemodiálise^(78). Em nosso estudo, 6 pacientes (30%) não alcançaram o hematócrito-alvo de 30%. Quando comparados com os 14 pacientes que obtiveram hematócrito maior ou igual a 30%, não observamos diferenças estatisticamente significativas na idade, sexo, tempo de tratamento hemodialítico, índice de reticulócitos, número de transfusões nos seis meses que antecederam o estudo, nível sérico de cálcio e fósforo e porcentagem de redução de uréia. Porém, o hematócrito inicial foi menor no grupo que não atingiu valor igual ou maior que 30% ($20,16 \pm 1,94$ vs $23,85 \pm 3,54$, $p < 0,02$) e a dosagem de ferro sérico foi maior ($85,36 \pm 13,78$ vs. $67,79 \pm 14,14$, $p < 0,04$). Talvez estes dados reflitam uma menor velocidade de eritropoese causada por um fator não reconhecido ou uma necessidade de utilizar doses maiores de eritropoetina para obter o hematócrito desejado.

A eritropoetina recombinante humana tem sido considerada o maior avanço científico no tratamento do paciente com insuficiência renal crônica desde a utilização da ciclosporina no manejo do transplante renal^(61). Ela mostrou ser eficiente na correção da anemia dos pacientes em hemodiálise crônica. A ocorrência de reações adversas é bastante diminuída com o uso de um protocolo que permita o uso de doses crescentes do hormônio, de acordo com a resposta eritropoética de cada paciente. A eliminação das transfusões sanguíneas e a melhora da qualidade de vida tornam esta terapêutica de fundamental importância no atendimento do paciente com insuficiência renal crônica terminal.

CONCLUSÕES

1. A eritropoetina recombinante humana promoveu a correção da anemia associada à insuficiência renal crônica em pacientes mantidos em hemodiálise crônica.
2. A necessidade de transfusões sanguíneas foi virtualmente eliminada, excetuando-se apenas duas situações de intercorrências hemorrágicas.
3. O esquema posológico de eritropoetina utilizado mostrou ser eficaz e seguro no grupo de pacientes estudados.
4. O potássio sérico aumentou significativamente durante o estudo e deve ser monitorizado durante a terapêutica.
5. Não foram detectados fatores que pudessem ser responsáveis por resposta inadequada ao uso de eritropoetina recombinante humana.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABELS, R. - Review of hematologic effects of erythropoietin. **Semin. Nephrol.** 10 (suppl.1): 1-10, 1990.
2. ADAMSON, J.W. - The erythropoietin/hematocrit relationship in normal and polycythemic man: Implications of marrow regulation. **Blood** 32: 597-609, 1968.
3. ADAMSON, J.W. - The relationship of erythropoietin and iron metabolism to red blood cell production in humans. **Semin. Oncol.** 21 (suppl.3): 9-15, 1994.
4. ALFREY, A.C. - Chronic renal failure: Manifestations and pathogenesis. In: SCHRIER, R.W. (ed): **Renal and Electrolyte Disorders**, 3rd ed. Little, Brown and Company, Boston, 1986, p. 461-494.
5. ALLEGRA, V.; MENGOZZI, G. & VASILE, A. - Iron deficiency in maintenance hemodialysis patients: assessment of diagnosis criteria and of three different iron treatments. **Nephron** 57: 175-182, 1991.
6. AMAR, M.; CENDOROGLO NETO, M.; CANZIANI, M.E.; NADALETTO, M.A.; AJZEN, H. & DRAIBE, S.A. - Correção da anemia da insuficiência renal crônica pela eritropoetina humana recombinante liofilizada por via subcutânea. **Rev. Assoc. Med. Bras.** 40: 101-107, 1994.
7. ANAGNOSTOU, A. - Erythropoietin: A hematopoietic hormone produced by the kidney. **Semin. Nephrol.** 5: 104-114, 1985.

8. ANAGNOSTOU, A. & KURTZMAN, N.A. - The anemia of chronic renal failure. **Semin. Nephrol.** **5**: 115-127, 1985.
9. ANDERSON, R. - Heparinization and dialyzer clotting not effected by human recombinant erythropoietin therapy. **Dialysis & Transplantation** **20**: 670-674, 1991.
10. ASABA, H.; BERGSTROM, J.; LUNDGREN, G.; SORBO, B.; TRANAEUS, A. & ZACHRISSON, L. - Hypersequestration of ⁵¹Cr-labelled erythrocytes as a criterion for esplenectomy in regular hemodialysis patients. **Clin. Nephrol.** **8**: 304-307, 1977.
11. ASABA, H.; ALVESTRAND, A.; FURST, P. & BERGSTROM, J. - Clinical implications of uremic middle molecules in regular hemodialysis patients. **Clin. Nephrol.**, **19** :179-187, 1983.
12. ASHAI, N.I.; PAGANINI, E.P. & WILSON, J.M. - Intravenous versus subcutaneous dosing of Epoetin: a review of the literature. **Am. J. Kidney Dis.** **22** (suppl. 1): 23-31, 1993.
13. ATESHKADI, A.; JOHNSON, C.A. & ZIMMERMAN, S.W. - Epoetin use in peritoneal dialysis patients. In: NISSENSON, A.R. & FINE, R.N. (eds): **Dialysis Therapy**, 2nd ed. Hanley & Belfus, Inc., Philadelphia, 1993, p. 228-231.
14. BACHMANN, S.; HIR, M.L. & ECKARDT, K-U. - Colocalization of erythropoietin mRNA and ecto-5'-nucleotidase immunoreactivity in peritubular cells of rat renal cortex indicates that fibroblasts produce erythropoietin. **J. Histochem. Cytochem.** **41**: 335-341, 1993.
15. BANDEIRA, M.P.S.; HOETTE, M. & RUZANY, F. - Experiência clínica com eritropoetina recombinante humana. In: CRUZ, J.; DAVID NETO, E.; BURDMANN, E.A.; ALVES, M.A.V.F.R.; SALGADO FILHO, N.; MAGALHÃES, R.L. & BARROS, R.T. (eds): **Atualidades em Nefrologia 2**. Sarvier, São Paulo, 1992, p.161-176.

16. BARCLAY, P.G.; FISCHER, E.R. & HARRIS, D.C.H. - Interpatient variation in response to subcutaneous versus intravenous low dose erythropoietin. **Clin. Nephrol.** **40** : 277-280, 1993.
17. BARTHOLOMEW, R.J. & DELANEY, A.M. - Albumin. **Proc. Austral. Assoc. Clin. Biochem.** **1**: 214, 1966.
18. BASILE, C.; CASINO, F. & LOPEZ, T. - Percent reduction in blood urea concentration during dialysis estimates Kt/V in a simple and accurate way. **Am. J. Kidney Dis.** **15**: 40-43, 1990.
19. BENNET, W.M. - A multicenter clinical trial of epotin beta for anemia of end-stage renal disease. **J. Am. Soc. Nephrol.** **1**: 990-998, 1991.
20. BERGSTROM, J.; ASABA, H.; FURST, P. & LINDHOLM, B. - Middle molecules in uremic patients treated with continuous ambulatory peritoneal dialysis. **Periton. Dial. Bull. suppl.** **3**: S7-S12, 1983.
21. BLOEMBERGEN, W.E. & PORT, F.K. - Demographics of the ESRD population. In: NISSENSON, A.R. & FINE, R.N. (eds): **Dialysis Therapy**, 2nd ed. Hanley & Belfus, Inc., Philadelphia, 1993, p. 1-4.
22. BRENNER, B.M. & LAZARUS, J.M. - Chronic renal failure. In: ISSELBACHER, K.J.; BRAUNWALD, E.; WILSON, J.D.; MARTIN, J.B.; FAUCI, A.S. & KASPER, D.L. (eds): **Harrison's Principles of Internal Medicine**, 13th ed. McGraw-Hill, New York, 1994, p. 1274-1281.
23. BROWN, C.B. - Recombinant human erythropoietin in the treatment of anemia of chronic renal failure. **Erythropoiesis** **3**: 18-19, 1992.

24. BUNN, H. F. - Anemia. In: ISSELBACHER, K.J.; BRAUNWALD, E.; WILSON, J.D.; MARTIN, J.B.; FAUCI, A.S. & KASPER, D.L. (eds): **Harrison's Principles of Internal Medicine**, 13th ed. McGraw-Hill, New York, 1994, p. 313-317.
25. BUSUTTIL, R.; ROH, B.L. & FISHER, J.W. - Localization of erythropoietin in the glomerulus of the hypoxic dog kidney using a fluorescent antibody technique. **Acta. Haematol.** **47**: 238-242, 1972.
26. BUUR, T. & LUNDBERG, M. - Secondary effects of erythropoietin treatment on metabolism and dialysis efficiency in stable hemodialysis patients. **Clin. Nephrol.** **34**: 230-235, 1990.
27. BUUR, T. The influence of erythropoietin therapy on dialyser performance, diet and metabolism in haemodialysis patients. **Erythropoiesis** **3**: 117-123, 1992.
28. CANADIAN ERYTHROPOIETIN STUDY GROUP. Association between recombinant human erythropoietin and quality of life and exercise capacity of patients receiving haemodialysis. **Br. Med. J.** **300**: 573-578, 1990.
29. CARLINI, R.; OBIALO, C.I. & ROTHSTEIN, M. - Intravenous erythropoietin (rHuEPO) administration increases plasma endothelin and blood pressure in hemodialysis patients. **Hypertension** **6**: 103-107, 1993.
30. CARO, J. & ERSLEV, A.J. - Biologic and immunologic erythropoietin in extracts from hypoxic whole rat kidneys and in their glomerular and tubular fractions. **J. Lab. Clin. Med.** **103**: 922-931, 1984.
31. CASATI, S.; PASSERINI, P.; CAMPISE, M.R.; GRAZIANI, G.; CESANA, B.; PERISIC, M. & PONTICELLI, C. - Benefits and risks of protracted treatment with human recombinant erythropoietin in patients having haemodialysis. **Br. Med. J.** **295**: 1017-1020, 1987.

32. CHENG, I.K.P.; CY, C.; CHAN, M.K.; YU, L.; FANG, G.X. & WEI, D. - Correction of anemia in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis with subcutaneous recombinant erythropoietin twice a week: a long-term study. **Clin. Nephrol.** **35**: 207-212, 1991.
33. CHRISTIAN, D. G. - Method for determination of phosphorus. **Am. J. Clin. Pathol.** **54**: 118-123, 1979.
34. CILAG FARMACÊUTICA. **O uso da eritropoetina humana recombinante no tratamento da anemia da insuficiência renal crônica.** Monografia Clínica, 1990.
35. COOPER, R.A. & SHATTIL, S.J. - Mechanisms of hemolysis. The minimal red-cell defect. **N. Engl. J. Med.** **285**: 1514-1520, 1971.
36. CUNNINGHAM, J.; SHARMAN, V.L.; GOODWIN, F.J. & MARSH, F.P. - Do patients receiving haemodialysis need folic acid supplement ? **Br. Med. J.** **282**: 1582, 1981.
37. DANOVIATCH, G.M. & WILKINSON, A.H. - Evaluation of renal function. In: MASSRY, S.G. & GLASSOCK, R.J. (eds): **Textbook of Nephrology**, 2nd ed. Williams & Wilkins, Baltimore, 1989, p.1619-1627.
38. DAVIS, J.M.; ARAKAWA, T.; STRICKLAND, T.W. & YPHANTIS, D.A. - Characterization of recombinant human erythropoietin produced in Chinese hamster ovary cells. **Biochem.** **26**: 2633-2638, 1987.
39. DELWICHE, F.; GARRITY, M.J. & POWELL, J.S. - High levels of the circulating form of parathyroid hormone do not inhibit in vitro erythropoiesis. **J. Lab. Clin. Med.** **102**: 613-620, 1983.
40. DE MARCHI, S.; CECCHIN, E.; VILLALTA, D.; SEPIACCI, G.; SANTINI, G. & BARTOLI, E. - Relief of pruritus and decreases in plasma histamine concentrations during erythropoietin therapy in patients with uremia. **N. Engl. J. Med.** **326**: 969-972, 1992.

41. DESSYPRIS, E.N. - Erythropoiesis. In: LEE, G.R.; BITHELL, T.C.; FOERSTER, J.; ATHENS, J.W. & LUKENS, J.N. (eds): **Wintrobe's Clinical Hematology**, 9th ed., Lea & Febiger, Philadelphia, 1993, p. 134-157.
42. DOHERTY, C.C. - Gastrointestinal bleeding in dialysis patients. **Nephron** **63**: 132-139, 1993.
43. DRUEKE, T.B. - Modulating factors in the hematopoietic response to erythropoietin. **Am. J. Kidney Dis.** **18 (suppl.1)**: 87-92, 1991.
44. EBERST, M.E. & BERKOWITZ, L.R. - Hemostasis in renal disease: pathophysiology and management. **Am. J. Med.** **96**: 168-179, 1994.
45. ECKARDT, K-U.; BOUTELLIER, U.; KURTZ, A.; SCHPEN, M.; KOLLER, E.A. & BAUER, C. - Rate of erythropoietin formation in humans in response to acute hypobaric hypoxia. **J. Appl. Physiol.** **66**: 1785-1788, 1989.
46. ECKARDT, K-U.; RATCLIFFE, P.J.; TAN, C.C.; BAUER, C. & KURTZ, A. - Age-dependent expression of the erythropoietin gene in rat liver and kidneys. **J. Clin. Invest.** **89**: 753-760, 1992.
47. ECKARDT, K-U. - Erythropoietin: Oxygen-Dependent control of erythropoiesis and its failure in renal disease. **Nephron** **67**: 7-23, 1994.
48. EL-SHAHAWY, M.A.; FRANCIS, R.; AKMAL, M. & MASSRY, S.G. - Recombinant human erythropoietin shortens the bleeding time and corrects the abnormal platelet aggregation in hemodialysis patients. **Clin. Nephrol.** **41**: 308-313, 1994.
49. ERSLEV, A.J. - Humoral regulation of red cell production. **Blood** **8**: 349-357, 1953.
50. ERSLEV, A.J.; WILSON, J. & CARO, J. - Erythropoietin titers in anemic, nonuremic patients. **J. Lab. Clin. Med.** **109**: 429-433, 1987.

51. ESCHBACH, J.W.; COOK, J.D. & FINCH, C.A. - Iron absorption in chronic renal disease. **Clin. Sci.** **38**: 191-201, 1970.
52. ESCHBACH, J.W.; MLADENOVIC, J.; GARCIA, J.F.; WAHL, P.W. & ADAMSON, J.W. - The anemia of chronic renal failure in sheep. Response to erythropoietin rich plasma in vivo. **J. Clin. Invest.** **74**: 434-441, 1984.
53. ESCHBACH, J.W.; EGRIE, J.C.; DOWNING, M.R.; BROWNE, J.K. & ADAMSON, J.W. - Correction of the anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin : Result of a phase I and II clinical trial. **N. Engl. J. Med.** **316**: 73-78, 1987.
54. ESCHBACH, J.W. & ADAMSON, J.W. - Anemia in renal disease. In: SCHRIER, R. W. & GOTTSCHALK, C.W. (eds): **Diseases of the Kidney**, 4th ed. Little, Brown and Company, Boston, 1988, p.3019-3034.
55. ESCHBACH, J.W. & ADAMSON, J.W. - Recombinant human erythropoietin: implications for Nephrology. **Am. J. Kidney Dis.** **11**: 203-208, 1988.
56. ESCHBACH, J.W. - The anemia of chronic renal failure: pathophysiology and the effects of recombinant erythropoietin. **Kidney Int.** **35**: 134-148, 1989.
57. ESCHBACH, J.W.; ABDULHADI, M.H.; BROWNE, J.K.; DELANO, B.G.; DOWNING, M.R.; EGRIE, J.C.; EVANS, R.W.; FRIEDMAN, E.A.; GRABER, S.E.; HALEY, N.R.; KORBET, S.; KRANTZ, S.B.; LUNDIN, A.P.; NISSENSON, A.R.; OGDEN, D.A.; PAGANINI, E.P.; RADER, B.; RUTSKY, E.A.; STIVELMAN, J.; STONE, W.J.; TESCHAN, P.; VAN STONE, J.C.; VAN WYCK, D.B.; ZUCKERMAN, K. & ADAMSON, J.W. - Recombinant human erythropoietin in anemic patients with end-stage renal disease. Results of a phase III multicenter clinical trial. **Ann. Intern. Med.** **14**: 992-1000, 1989.

58. ESCHBACH, J.W. & ADAMSON, J.W. - Hematologic consequences of renal failure. In: BRENNER, B.M. & RECTOR JR, F.C. (eds): **The Kidney**, 4th ed. W.B. Saunders, Philadelphia, 1991, p. 2019-2035.
59. ESCHBACH, J.W. - Erythropoietin 1991 - An Overview. **Am. J. Kidney Dis.** **18 (suppl.1)**: 3-9, 1991.
60. ESCHBACH, J.W. & ADAMSON, J.W. - The pathophysiology and treatment of the anemia of chronic renal failure. In: GONICK, H.C. (ed): **Current Nephrology**, 14th vol. Mosby Year Book, St. Louis, 1991, p. 259-293.
61. ESCHBACH, J.W. - Erythropoietin: The promise and the facts. **Kidney Int.** **45 (suppl. 44)**: S70-S76, 1994.
62. EVANS, R.W. - Recombinant human erythropoietin and the quality of life of end-stage renal disease patients: A comparative analysis. **Am. J. Kidney Dis.** **18**: 62-70, 1991.
63. FALLER, B.; SLINGENEYER, A.; WALLER, M.; MICHEL, C.; GRUTZMACHER, P.; MULLER, H.P.; BARANY, P.; GRABENSEE, B.; ISSAD, B.; SCHMITT, H. & MEISL, F. - Daily subcutaneous administration of recombinant human erythropoietin (rhEPO) in peritoneal dialysis patients: a European dose-response study. **Clin. Nephrol.** **40**: 168-175, 1993.
64. FISCHL, M.; GALPIN, J.E.; LEVINE, J.D.; GROOPMAN, J.E.; HENRY, D.H.; KENNEDY, P.; MILES, S.; ROBBINS, W.; STARRETT, B.; ZALUSKY, R.; ABELS, R.I.; TSAI, H.C. & RUDNICK, S.A. - Recombinant human erythropoietin for patients with AIDS treated with zidovudine. **N. Engl. J. Med.** **322**: 1488-1493, 1990.
65. FISCHER, C.; SCIGALLA, P. & PARK, W. - Influence of rhEPO therapy on the protein metabolism of hemodialysis patients with terminal renal insufficiency. **Cont. Nephrol.** **76**: 250-256, 1989.

66. FUKUDA, M.N.; SASAKI, H.; LOPEZ, L. & FUKUDA, M. - Survival of recombinant erythropoietin in the circulation: The role of carbohydrates. **Blood** **73**: 84-89, 1989.
67. GIMENEZ, L.F. & SCHEEL, P.J. - Clinical application of recombinant erythropoietin in renal dialysis patients. **Hematol. Oncol. Clin. North Am.** **8**: 913-926, 1994.
68. GOLDWASSER, E. - From protein to gene to protein: The molecular biology of erythropoietin. **Am. J. Kidney Dis.** **18 (suppl.1)**: 10-13, 1991.
69. GOODWIN, J.; MURPHY, B. & GUILLEMETTE, B. - Serum iron-binding capacity. **Clin. Chem.** **12**: 47, 1966.
70. GUTHRIE, M.; CARDENAS, D.; ESCHBACH, J.W.; HALEY, N.R.; ROBERTSON, H.T. & EVANS, R.W. - Effects of erythropoietin on strength and functional status of patients on hemodialysis. **Clin. Nephrol.** **39** : 97-102, 1993.
71. GUTMANN, I. & BERGMAYER, H.U. - **Methods of Enzymatic Analysis**. 2nd ed. Springer-Verlag Chemie/Academic Press, New York, 1974.
72. HALEY, N.R.; ESCHBACH, J.W. & ADAMSON, J.W. - Uremic inhibitors do not impair the response to erythropoietin (EPO) in chronic renal failure (abstract). **Kidney Int.** **37**: 507, 1990.
73. HAMMERSCHMIDT, D.E.; GOLDBERG, R.; RAIJ, L. & KAY, N.E. - Leukocyte abnormalities in renal failure and hemodialysis. **Semin. Nephrol.** **5**: 91-103, 1985.
74. HARNETT, J.D. & LE, H. - Cardiovascular effects of erythropoietin. **Dialysis & Transplantation** **22** : 536-540, 1993.
75. HENRY, R.J.; CANNON, D.C. & WINKELMAN, J.W. - **Clinical Chemistry, Principles and Technics**, 2nd ed. Harper & Row, New York, 1974.

76. HORI, K.; ONOYAMA, K.; ISEKI, K.; FUJIMI, S. & FUJISHIMA, M. - Hemodynamics and volume changes by recombinant human erythropoietin (rHu-EPO) in the treatment of anemic hemodialysis patients. **Clin. Nephrol.** **33**: 293-298, 1990.
77. HUTCHINS, L. & LIPSCHITZ, D. - Iron and folate metabolism in renal failure. **Sem. Nephrol.** **5**: 142-146, 1985.
78. IFUDU, O.; FELDMAN, J. & FRIEDMAN, E.A. - The intensity of hemodialysis and the response to erythropoietin in patients with end-stage renal disease. **N. Engl. J. Med.** **334**: 420-426, 1996.
79. ISHIMITSU, T.; TSUKADA, H.; OGAWA, Y.; NUMABE, A. & YAGI, S. - Genetic predisposition to hypertension facilitates blood pressure elevation in hemodialysis patients treated with erythropoietin. **Am. J. Med.** **94**: 401-406, 1993.
80. JACOBS, K.; SHOEMAKER, C. & RUDERSDORF, R. - Isolation and characterization of genomic and cDNA clones of human erythropoietin. **Nature** **313**: 806-810, 1985.
81. JONES, R.H. - Longitudinal data with serial correlation: a state space approach. **Statistics**, Chapman & Hall, London, 1993.
82. JORGETTI, V. - **Terapia com desferrioxamina em pacientes hemodialisados crônicos portadores de osteopatia aluminica : estudo prospectivo.** São Paulo, 1991. Tese (Doutorado)- Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.
83. KAUPKE, C.J.; VAZIRI, N.D.; SAMPSON, J.R.; CYRIL, B. - Effect of erythropoietin therapy on diet and dialysis clearances in hemodialysis patients. **Int. J. Artif. Org.** **13**: 218-222, 1990.
84. KOCH, K.M.; PATYNA, W.D.; SHALDON, S. & WERNER, E. - Anemia of the regular hemodialysis patients and its treatment. **Nephron** **12**: 405-419, 1974.

85. KOCH, K.M. - Hematopoietic system in uremia - Anemia. In: MASSRY, S.G. & GLASSOCK, R.J. (eds): **Textbook of Nephrology**, 2nd ed. Williams & Wilkins, Baltimore, 1989, p.1199-1204.
86. KOCH, K. M. & FREI, U. - *Treatment of renal anemia, 1960-1990*. In: GRUNFELD, J-P.; BACH, J.F.; FUNCK-BRENTANO, J-L. & MAXWELL, M.H. (eds): **Advances in Nephrology**, 20th vol. Mosby Year Book, St. Louis, 1991, p. 19-31.
87. KOKOT, F. & WIECEK, A. - Arterial hypertension in uraemic patients treated with erythropoietin. **Nephron** **71**: 127-132, 1995.
88. KOURY, S.T.; BONDURANT, M.C. & KOURY, M.J. - Localization of erythropoietin synthesizing cells in murine kidneys by in situ hybridization. **Blood** **71**: 524-527, 1988.
89. KOURY, M.J. & BONDURANT, M.C. - Erythropoietin retards DNA breakdown and prevents programmed death in erythroid progenitor cells. **Science** **248**: 378-381, 1990.
90. KOURY, S.T.; BONDURANT, M.C.; KOURY, M.J. & SEMENZA, G.L. - Localization of cells producing erythropoietin in murine liver by in situ hybridization. **Blood** **77**: 2497-2503, 1991.
91. KOURY, M.J. & BONDURANT, M.C. - The mechanism of erythropoietin action. **Am. J. Kidney Dis.** **23 (suppl.1)**: 20-23, 1991.
92. KOURY, S.T. & KOURY, M.J. - Erythropoietin production by the kidney. **Semin. Nephrol.** **13**: 78-86, 1993.
93. KRANTZ, S.B. - Erythropoietin. **Blood** **77**: 419-434, 1991.
94. KUROYANAGI, T. - Anemia associated with chronic renal failure, with special reference to kinetics of the erythron. **Acta Haematol. Japan.** **24**: 156-175, 1961.

95. KURTZ, A.; JELKMANN, W.; SINOWATZ, F. & BAUER, C. - Renal mesangial cell cultures as a model for study of erythropoietin production. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** **80**: 4008-4011, 1983.
96. LACOMBE, C.; DASILVA, J-L.; BRUNEVAL, P.; FOURNIER, J.G.; WENDLING, F.; CASADEVALL, N.; CAMILLERI, J.P.; BARIETY, J.; VARET, B. & TAMBOURIN, P. - Peritubular cells are the site of erythropoietin synthesis in the murine hypoxic kidney. **J. Clin. Invest.** **81**: 620-623, 1988.
97. LACOMBE, C.; DASILVA, J-L.; BRUNEVAL, P.; CASADEVALL, N.; CAMILLERI, J-P.; BARIETY, J.; TAMBOURIN, P. & VARET, B. - Erythropoietin: Sites of synthesis and regulation of secretion. **Am. J. Kidney Dis.** **23 (suppl.1)**: 14-19, 1991.
98. LACOMBE, C. Resistance to erythropoietin (editorial). **N. Engl. J. Med.** **334**: 660-662, 1996.
99. LANDSCHULZ, K.T.; NOYES, A.N.; ROGERS, O. & BOYER, S.H. - Erythropoietin receptors on murine erythroid colony-forming units: natural history. **Blood** **73**: 1476-1486, 1989.
100. LAZARUS, J.M. - Update on adverse reactions to erythropoietin therapy. **ASAIO J.** **40**: 70-71, 1994.
101. LEVEY, A.S.; MADAIO, M.P. & PERRONE, R.D. - Laboratory assessment of renal disease: Clearance, urinalysis and renal biopsy. In: BRENNER, B.M. & RECTOR JR, F.C. (eds): **The Kidney**, 4th ed. W.B. Saunders, Philadelphia, 1991, p. 919-968.
102. LIMA, J.J.G.; FONSECA, J.A. & GODOY, A.D. - Fatores de risco em pacientes tratados por hemodiálise crônica. **J. B. Nefrol.** **1**: 1-8, 1988.

103. LIN, F.K.; SUGGS, S.; LIN, C.H.; BROWNE, J.K.; SAMLLING, R.; EGRIE, J.C.; CHEN, K.K.; FOX, G.M.; MARTIN, F.; STABINSKY, Z.; BADRAWI, S.M.; LAI, P.H. & GOLDWASSER, E. - Cloning and expression of the human erythropoietin gene. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** **82**: 7580-7584, 1985.
104. LUDWIG, H.; FRITZ, E.; KOTZMANN, H.; HOCKER, P.; GISSLINGER, H. & BARNAS, U. - Erythropoietin treatment of anemia associated with multiple myeloma. **N. Engl. J. Med.** **322**: 1693-1699, 1990.
105. LUI, S.F.; LAW, C.B.; TING, S.M.; LI, P. & LAI, K.N. - Once weekly versus twice subcutaneous administration of recombinant human erythropoietin in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. **Clin. Nephrol.** **36**: 246-251, 1991.
106. MACDOUGALL, I.C.; HUTTON, R.D.; CAVILL, I.; COLES, G.A. & WILLIAMS, J.D. - Poor response to treatment of renal anaemia with erythropoietin corrected by iron given intravenously. **Br. Med. J.** **299**: 157-158, 1989.
107. MACDOUGALL, I.C.; LEWIS, N.P. & SAUNDERS, M.J. - Long-term cardiorespiratory effects of amelioration of renal anaemia by erythropoietin. **Lancet** **335**: 489-493, 1990.
108. MACDOUGALL, I.C.; CAVILL, I.; HULME, B.; BAIN, B.; MCGREGOR, E.; MCKAY, P.; SANDERS, E.; COLES, G.A. & WILLIAMS, J.D. - Detection of functional iron deficiency during erythropoietin treatment: a new approach. **Br. Med. J.** **304**: 225-226, 1992.
109. MASSRY, S.G. - Parathyroid hormone as a uremic toxin. In: MASSRY, S.G. & GLASSOCK, R.J. (eds): **Textbook of Nephrology**, 2nd ed. Williams & Wilkins, Baltimore, 1989, p.1126-1144.

110. MAY, R.C.; KELLY, R.A. & MITCH, W.E. - Pathophysiology of uremia. In: BRENNER, B.M. & RECTOR JR., F.C. (eds): **The Kidney**, 4th ed. W.B. Saunders, Philadelphia, 1991, p. 1997-2018.
111. MOREB, J.; POPOVTZER, M.M.; FRIEDLAENDER, M.M.; KONIJN, A.M. & HERSHKO, C. - Evaluation of iron status in patients on chronic hemodialysis: relative usefulness of bone marrow hemosiderin, serum ferritin, transferrin saturation, mean corpuscular volume and red cell protoporphyrin. **Nephron** **35**: 196-200, 1983.
112. MUIRHEAD, N. - Recombinant human erythropoietin patient dosing algorithm. **Semin. Nephrol.** **10**: 59-65, 1990.
113. NISSENSON, A.R.; NIMER, S.D. & WOLCOTT, D.L. - Recombinant human erythropoietin and renal anemia: Molecular biology, clinical efficacy, and nervous system effects. **Ann. Intern. Med.** **114**: 402-416, 1991.
114. NISSENSON, A.R. & THE NATIONAL COOPERATIVE RHU ERYTHROPOIETIN STUDY GROUP. National Cooperative rHu Erythropoietin Study in patients with chronic renal failure: A phase IV multicenter study. **Am. J. Kidney Dis.** **18**: 24-33, 1991.
115. NOMURA, S.; OGAWA, Y.; OSAWA, G.; KATAGIRI, M.; HARADA, T. & NAGAHANA, H. - Myelofibrosis secondary to renal osteodystrophy. **Nephron** **72**: 683-687, 1996.
116. OMER, A.; FINLAYSON, N.D.C.; SHEARMAN, D.J.C.; SAMSON, R.R. & GIRWOOD, R.H. - Plasma and erythrocyte folate in iron deficiency and folate deficiency. **Blood** **35**: 821-828, 1970.
117. ONO, K. & HISASUE, Y. - Is folate supplementation necessary in hemodialysis patients on erythropoietin therapy ? **Clin. Nephrol.** **38**: 290-292, 1992.

118. OWEN JR., W.F.; LEW, N.L.; LIU, Y.; LOWRIE, E.G. & LAZARUS, J.M. - The urea reduction ratio and serum albumin concentration as predictors of mortality in patients undergoing hemodialysis. **N. Engl. J. Med.** **329**: 1001-1006, 1993.
119. PAGANINI, E.P. - Hematologic abnormalities. In: DAUGIRDAS, J.T. & ING, T.S. (eds): **Handbook of Dialysis**, 2nd ed. Little, Brown and Company, Boston, 1994, p.445-468.
120. PAINE, C.J.; HARGROVE JR., M.D. & EICHNER, E.R. - Folic acid binding protein and folate balance in uremia. **Arch. Intern. Med.** **136**: 756-760, 1976.
121. PASCUAL, J.; TERUEL, J.L.; MOYA, J.L.; LIANO, F.; JIMÁNEZ-MENA, M. & ORTUO, J. - Regression of left ventricular hypertrophy after partial correction of anemia with erythropoietin in patients on hemodialysis: a prospective study. **Clin. Nephrol.** **35** : 280-287, 1991.
122. PINCUS, T.; OLSEN, N.J.; RUSSEL, J.; WOLFF, F.; HARRIS, E.R.; SCHNITZER, T.J.; BOCCAGNO, J.A. & KRANTZ, S.B. - Multicenter study of recombinant human erythropoietin in correction of anemia in rheumatoid arthritis. **Am. J. Med.** **89**: 161-168, 1990.
123. PORTER, D.L. & GOLDBERG, M.A. - Physiology of erythropoietin production. **Semin. Hematol.** **31**: 112-121, 1994.
124. QUINN-CEFARO, R.; LUNDIN, P.; DELANO, B.G. & FRIEDMAN, E.A. - Subjective benefits of recombinant human erythropoietin in hemodialysis patients. **Dialysis & Transplantation** **18** : 444-446, 1989.
125. RAINE, A.E.G. - Seizures and hypertension events. **Semin. Nephrol.** **10 (Suppl.1)**: 40-50, 1990.

126. RAINE, A.E.G. & ROGER, S.D. - Effects of erythropoietin on blood pressure. **Am. J. Kidney Dis.** **18**: 76-83, 1991.
127. RAO, D.S.; SHIH, M. & MOHINI, R. - Effect of serum parathyroid hormone and bone marrow fibrosis on the response to erythropoietin in uremia. **N. Engl. J. Med.** **328**: 171-176, 1993.
128. RATCLIFFE, P.J. - Molecular biology of erythropoietin. **Kidney Int.** **44**: 887-904, 1993.
129. REMUZZI, G. - Bleeding in renal failure. **Lancet** **1**: 1205-1208, 1988.
130. ROMÃO JÚNIOR, J.E.; ABENSUR, H.; DRAIBE, S.A.; BANDEIRA, F.; RUZZANY, F.; LOWEN, J.; RIELLA, M.; EVANGELISTA JUNIOR, J.B.; CAMPOS, H. & SABAGGA, E. - Uso da eritropoetina recombinante humana no tratamento da anemia do paciente em hemodiálise: um estudo multicêntrico. **Rev. Assoc. Med. Bras.** **38**: 57-61, 1992.
131. ROSEMBERG, M.E. - Role of transferrin measurement in monitoring iron status during recombinant human erythropoietin therapy. **Dialysis & Transplantation** **21**: 81-90, 1992.
132. SALEHMOGHADDAM, S.; FINE, L.G.; NORD, E.P.; DANOVITCH, G.M.; KURTZ, I. & BACALLAO, R. - Pathophysiology and nephron adaptation in chronic renal failure. In: SCHRIER, R. W. & GOTTSCHALK, C.W. (eds): **Diseases of the Kidney**, 4th ed. Little, Brown and Company, Boston, 1988, p. 2985-3018.
133. SAWADA, K.; KRANTZ, S.B.; KANS, J.S.; DESSYPRIS, E.N.; SAWYER, S.; GLICK, A.D. & CIVIN, C.I. - Purification of human erythroid colony forming units and demonstration of specific binding of erythropoietin. **J. Clin. Invest.** **80**: 357-366, 1987.

134. SCHAEFER, R.M.; HORL, W.H. & MASSRY, S.G. - Treatment of renal anemia with recombinant human erythropoietin. **Am. J. Nephrol.** 9 : 353-362, 1989.
135. SCHAEFER, R.M. & SCHAEFER, L. - Management of iron substitution during r-HuEPO therapy in chronic renal failure patients. **Erythropoiesis** 3: 71-75, 1992.
136. SCHUSTER, S.J.; KOURY, S.T.; BOHRER, M.; SALCEDA, S. & CARO, J. -. Cellular sites of extrarenal and renal erythropoietin production in anemic rats. **Br. J. Haematol.** 81: 153-159, 1992.
137. SCHWARTZ, A.B.; PRIOR, J.E.; MINTZ, G.S.; KIM, K.E. & KAHN, S.B. - Cardiovascular and hemodynamic effects of correction of anemia of chronic renal failure with recombinant human erythropoietin. **Transpl. Proc.** 23: 1827-1830, 1991.
138. SEGAL, G.M.; STUEVE, T. & ADAMSON, J.W. - Spermine and spermidine are nonspecific inhibitors of in vitro hematopoiesis. **Kidney Int.** 31: 72-76, 1987.
139. SHAND, B.I.; BUTTIMORE, A.L.; HURRELL, M.A.; WELLS, J.E.; INKSTER, J.A.; BAILEY, R.R.; ROBSON, R.A. & LYNN, K.L. - Hemorheology and fistula function in home hemodialysis patients following erythropoietin treatment: a prospective placebo-controlled study. **Nephron** 64: 53-57, 1993.
140. SHEMIN, D.; ELNOUR, M.; AMARANTES, B.; ABUELO, J.G. & CHAZAN, J.A. - Oral estrogens decrease bleeding time and improve clinical bleeding in patients with renal failure. **Am. J. Med.** 89: 436-440, 1990.
141. SHERMAN, R.A.; TORRES, F. & CODY, R.P. - The effect of red cell transfusion on hemodialysis-related hypotension. **Am. J. Kidney Dis.** 11: 33-35, 1988.
142. SMITH, M.D.; WANG, F.F. & GOLDWASSER, E. - The role of carbohydrate in erythropoietin action. **Endocrinol.** 116: 2293-2299, 1985.

143. SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. **V Registro Brasileiro de Diálise e Transplante Renal**, 1993.
144. SPIVAK, J.L. & HOGANS, B.B. - The in vivo metabolism of recombinant human erythropoietin in the rat. **Blood** **73**: 90-99, 1989.
145. STEVENS, M.E.; SUMMERFIELD, G.P.; HALL, A.A.; BECK, C.A.; HARDING, A.J.; COVE-SMITH, J.R. & PATERSON, A.D. - Cost benefits of low dose subcutaneous erythropoietin in patients with anaemia of end stage renal disease. **Br. Med. J.** **304**: 474-477, 1992.
146. STOCKENHUBER, F.; LOIBL, U.; GOTTSÄUNER-WOLF, M.; JAHN, C.; MANKER, W.; MEISL, TH.F. & BALCKE, P. - Pharmacokinetics and dose response after intravenous and subcutaneous administration of recombinant erythropoietin in patients on regular haemodialysis treatment or continuous ambulatory peritoneal dialysis. **Nephron** **59**: 399-402, 1991.
147. SYVERTSEN, G.R. & HARRIS, J.A. - Erythropoietin production in dogs exposed to high altitude and carbon monoxide. **Am. J. Physiol.** **225**: 293-299, 1973.
148. TAN, C.C.; ECKARDT, K-U. & RATCLIFFE, P.J. - Organ distribution of erythropoietin messenger RNA in normal and uremic rats. **Kidney Int.** **40**: 69-76, 1991.
149. TAN, C.C.; ECKARDT, K-U.; FIRTH, J. & RATCLIFFE, P.J. - Feedback modulation of renal and hepatic erythropoietin messenger RNA in response to graded anemia and hypoxia. **Am. J. Physiol.** **263**: F474-F481, 1992.
150. TAYLOR, J.E.; BELCH, J.J.F.; MCLAREN, M.; HENDERSON, I.S. & STEWART, W.K. - Effect of erythropoietin therapy and withdrawal on blood coagulation and fibrinolysis in hemodialysis patients. **Kidney Int.** **44** : 182-190, 1993.

151. TAYLOR, J.E.; BELCH, J.J.F.; FLEMING, L.W.; MACTIER, R.A.; HENDERSON, I.S. & STEWART, W.K. - Erythropoietin response and route of administration. **Clin. Nephrol.** **41**: 297-302, 1994.
152. THOMPSON, J.R. - Treatment of anemia in dialysis subjects. In: HENRICH, W.L. (ed): **Principles and Practice of Dialysis**, 1st ed. Williams & Wilkins, Baltimore, 1994, p. 297-327.
153. VAN GEELLEN, J.A.; NUBÉ, M.J. & ZUURBIER, P.A. - Influence of erythropoietin treatment on urea kinetic parameters in hemodialysis patients. **Clin. Nephrol.** **35**: 165-170, 1991.
154. VIGANÒ, G. & REMUZZI, G. - Prevention and therapeutic management of bleeding in dialysis patients. In: NISSENSON, A.R. & FINE, R.N. (eds): **Dialysis Therapy**, 2nd ed. Hanley & Belfus, Inc., Philadelphia, 1993, p.124-128.
155. WALLNER, S.F. & VAUTRIN, R.M. - Evidence that inhibition of erythropoiesis is important in the anemia of chronic renal failure. **J. Lab. Clin. Med.** **97**: 170-178, 1981.
156. WALLS, J.; LEUNISSEN, K.M.L.; MAYER, G.; BÁRÁNY, P.; SCHAEFER, F.; GRIMM, G.; TAYLOR, J.E.; TORBJORN, L. & VALDERRÁBANO, F. - Haemoglobin - Is more better ? European Erythropoietin Symposium Workshop 2. **Excerpta Medica** **4-5**, 1994.
157. WINEARLS, C.G.; OLIVIER, D.O.; PIPPARD, M.J.; REID, C.; DOWNING, M.R. & COTES, P.M. - Effect of human erythropoietin derived from recombinant DNA on the anaemia of patients maintained by chronic haemodialysis. **Lancet** **2**: 1175-1178, 1986.

158. WYCK, D.B.; STIVELMAN, J.C.; RUIZ, J.; KIRLIN, L.F.; KATZ, M.A. & OGDEN, D.A. - Iron status in patients receiving erythropoietin for dialysis-associated anemia. **Kidney Int.** **35**: 712-716, 1989.
159. YAGER, H.M. & HARRINGTON, J.T. - Evaluation of serum electrolytes, creatinine, and blood urea nitrogen. In: JACOBSON, H.R.; STRIKER, G.E. & KLAHR, S. (eds): **The Principles and Practice of Nephrology**, 2nd ed. Mosby, St. Louis, 1995, p. 85-89.
160. ZAPPACOSTA, A.R.; PERRAS, S.T. & BELL, A. - Weekly subcutaneous recombinant human erythropoietin corrects anemia of progressive renal failure. **Am. J. Med.** **91**: 229-232, 1991.